

Universidad de Costa Rica
Sistema de Estudios de Posgrado

Evaluación de extractos vegetales y *Beauveria bassiana* en el manejo de mosca blanca Hemiptera: Aleyrodidae (*Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum*) en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*) en invernadero.

Tesis sometida a la consideración de la Comisión del programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales para optar al grado y título de Maestría Académica en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales con Énfasis en Protección de Cultivos

Linda Michelle Araúz Madrid

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

DEDICATORIA

A mi abuelita Angelina Pinto (q.e,p,d), mi mejor amiga.

Mi madre Magda Madrid, por ser mi fortaleza.

Todas las personas que el universo puso en mi camino en esta etapa de mi vida.

AGRADECIMIENTO

Al Servicio Alemán de Intercambio Académico (DAAD), por confiar en mis capacidades y otorgarme la beca.

A la profesora Helga Blanco y asesores, Natalia Barboza y Carlos Rodríguez por todo su tiempo y enseñanzas.

A la empresa Tomatissimo S.A. por la confianza y permitir realizar la investigación en sus invernaderos.

A la empresa Enlase S.A. por toda su colaboración

A Federico Paniagua, Eduardo Hernández y Guillermo Vargas por todos sus aportes y disposición .

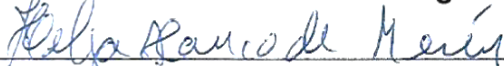
“Esta tesis fue aceptado por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Maestría Académica en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales con Énfasis en Protección de Cultivos”



Dr. Manuel A. Solís Vargas

Representante del Decano

Sistema de Estudios de Posgrado



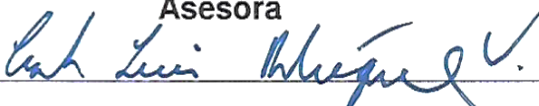
Dra. Helga Blanco Metzler

Director(a) de Tesis



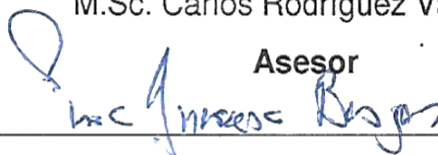
Dra. Natalia Barboza Vargas

Asesora



M.Sc. Carlos Rodríguez Valverde

Asesor



Dr. Eric Guevara Berger

Director Programa de Posgrado en Ciencias Agrícolas y Recursos Naturales



Linda Michelle Araúz Madrid

Candidata

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN.....	5
1. OBJETIVO GENERAL	6
OBJETIVO ESPECÍFICOS	6
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
3.1. Cultivo de tomate	7
3.1.1. Clasificación.....	7
3.1.2. Fenología.....	7
3.1.3. Producción	8
3.1.4. Importancia económica.....	8
3.2. Mosca Blanca	9
3.2.1. Especies de <i>Bemisia tabaci</i>	9
3.3. Distribución	11
3.4. Ciclo de vida	11
3.5. Daño	12
3.6. Transmisión de virus	12
3.7. Nivel de daño económico	13
3.8. Hospedero	13
3.9. Métodos de combate.....	14
3.10. Resistencia a insecticidas.....	14
4. METODOLOGÍA.....	15
4.1. Identificación molecular de la especie de mosca blanca	15
4.2. Localización de pruebas de campo	16
4.3. Establecimiento del ensayo	16
4.4. Diseño experimental	16
4.5. Tratamientos.....	17
4.6. Muestreos	17
4.7. Variables evaluadas	18
4.8. Análisis estadístico.....	19
5. RESULTADOS	21
5.1. Identificación molecular de moscas blancas	21

3.1. Evaluación de tratamientos en mosca blanca	24
3.1. Estimación del efecto de temperatura y humedad relativa en mosca blanca.....	37
3.2. Incidencia de Begomovirus.....	41
4. DISCUSIÓN.....	42
5. CONCLUSIÓN.....	47
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

RESUMEN

Las moscas blancas, *Bemisia tabaci* (Gennadius) y *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) son una de las principales plagas en la producción de tomate a nivel mundial debido a que presentan una alta plasticidad genética y son vectores de distintas especies virales. En los últimos años se ha propuesto que *B. tabaci* es un complejo de especies, antes descritas como biotipos. En Costa Rica se había considerado a *T. vaporariorum* como la mosca blanca de los invernaderos *B. tabaci* como la mosca blanca de la papa, pero con el paso del tiempo se ha adaptado a estructuras de producción. *B. tabaci* Mediterráneo (MED) (biotipo Q) fue reportado hace seis años en cultivos en invernadero, esta especie a diferencia de las otras existentes en el país presenta mayor resistencia a plaguicidas sintéticos que se utilizan actualmente y se considera que puede tener un efecto negativo a largo plazo en el manejo.

Esta investigación permitió evaluar el uso de productos a base de extractos vegetales y hongos entomopatógenos como métodos alternativos para el manejo de moscas blancas. La investigación se realizó en un invernadero ubicado en Coris, Cartago y se evaluó sobre la población de moscas blancas que ingresaron al cultivo. Las formulaciones evaluadas fueron extractos de neem y *Beauveria bassiana* con aplicaciones semanales durante los primeros cuatro meses de cultivo. El análisis de población de mosca blanca dio como resultado que *T. vaporariorum* predominaba sobre *B. tabaci* MED y para ambas especies se encontró un solo haplotipo. El uso de extractos vegetales sobre el manejo de estas poblaciones de mosca blanca tuvo un mejor efecto al combinarse con hongos entomopatógenos, dando como resultado un efecto de sinergismo.

ABSTRACT

White flies, *Bemisia tabaci* (Gennadius) and *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) are one of the main pests in tomato production worldwide because they have high genetic plasticity and are vectors of different viral species. In recent years it has been proposed that *B. tabaci* is a complex of species, previously described as biotypes. In Costa Rica, *T. vaporariorum* had been considered the greenhouse whitefly *B. tabaci* as the potato whitefly, but over time it has adapted to production structures. *B. tabaci* Mediterranean (MED) (biotype Q) was reported six years ago in greenhouse crops, this species unlike the others existing in the country presents greater resistance to synthetic pesticides currently used and is considered to have a long-term negative effect on management.

This research allowed the evaluation of the use of products based on plant extracts and entomopathogenic fungi as alternative methods for the management of white flies. The research was carried out in a greenhouse located in Coris, Carthage and was evaluated on the whitefly population entering the crop. The formulations evaluated were neem and *Beauveria bassiana* extracts with weekly applications during the first four months of cultivation. The analysis of whitefly population resulted in *T. vaporariorum* predominating over *B. tabaci* MED and for both species only one haplotype was found. The use of plant extracts on the management of these whitefly populations had a better effect when combined with entomopathogenic fungi, resulting in a synergistic effect.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Árbol filogenético considerando 640 nucleótidos del gen citocromo oxidasa mitocondrial subunidad I (mtCOI) de individuos de *B. tabaci* MED con secuencias representativas de los reportados en América y una secuencia de *B. tabaci* MAEAM1 utilizada como grupo externo (GenBank No. KP941428) proveniente de Sudán. Las secuencias se alinearon con el programa MUSCLE. El árbol se estimó mediante interferencia Bayesiana. Los números en la barra significan las probabilidades Bayesiana y los haplotipos en negrita son los identificados en el estudio. _____ 21

Figura 2. Árbol filogenético considerando 540 nucleótidos del gen citocromo oxidasa mitocondrial subunidad I (mtCOI) de individuos de *T. vaporariorum* con secuencias representativas de los reportados en América y el mundo y una secuencia de *T. ricini* MAEAM1 (GenBank No. AM179447) proveniente de España utilizada como grupo externo. Las secuencias se alinearon con el programa MUSCLE y el árbol se estimó mediante interferencia Bayesiana. Los números en la barra significan las probabilidades Bayesiana y los haplotipos en negrita son los identificados en el estudio. _____ 23

Figura 3. Fluctuación de adultos de *Bemisia tabaci* MED en el cultivo de tomate en invernadero en Coris, Cartago. _____ 30

Figura 4. Fluctuación de huevos de *Bemisia tabaci* MED en el cultivo de tomate en invernadero en Coris, Cartago. _____ 30

Figura 5. Fluctuación de ninfas de *Bemisia tabaci* MED en el cultivo de tomate en invernadero en Coris, Cartago. _____ 31

Figura 6. Fluctuación de Adultos de *Trialeurodes vaporariorum* en el cultivo de tomate en invernadero en Coris, Cartago. _____ 36

Figura 7. Fluctuación de huevos de *Trialeurodes vaporariorum* en el cultivo de tomate en invernadero en Coris, Cartago. _____ 36

Figura 8. Fluctuación de ninfas de *Trialeurodes vaporariorum* en el cultivo de tomate en invernadero en Coris, Cartago. _____ 37

Figura 9. Dispersión de adultos, huevos y ninfas de *Bemisia tabaci* en relación de la temperatura (A, C y E) y humedad relativa (B, D, F) en el cultivo de tomate en invernadero durante los meses de octubre 2017 a febrero 2018 en Coris, Cartago. _____ 39

Figura 10. Dispersión de adultos, huevos y ninfas de *Trialeurodes vaporariorum* en relación de la temperatura (A, C y E) y humedad relativa (B, D, F) en el cultivo de tomate en invernadero durante los meses de octubre 2017 a febrero 2018 en Coris, Cartago. _____ 40

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Evaluación de presencia de <i>B. tabaci</i> a tratamientos de extractos vegetales, hongos entomopatógenos y testigos aplicados en el cultivo de tomate en invernadero durante 93 días en Coris, Cartago. Valores de la razón de propensiones (OR) con un límite inferior de 95% de confianza.	26
Cuadro 2. Evaluación de cantidad de <i>B. tabaci</i> en tratamientos de extractos vegetales, hongos entomopatógenos y testigos aplicados en el cultivo de tomate en invernadero durante 93 días en Coris, Cartago. Valores de la razón de medias con un límite inferior de 95% de confianza.	28
Cuadro 3. Evaluación de presencia de <i>T. vaporariorum</i> a tratamientos de extractos vegetales, hongos entomopatógenos y testigos aplicados en el cultivo de tomate en invernadero durante 93 días en Coris, Cartago. Valores de la razón de propensiones (OR) con un límite inferior de 95% de confianza.	32
Cuadro 4. Evaluación de cantidad de <i>T. vaporariorum</i> en tratamientos de extractos vegetales, hongos entomopatógenos y testigos aplicados en el cultivo de tomate en invernadero durante 93 días en Coris, Cartago. Valores de la razón de medias con un límite inferior de 95% de confianza.	34



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

SEP Sistema de
Estudios de Posgrado

Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.

Yo, Linda Michelle Arauz Madrid, con cédula de identidad PA0724936, en mi condición de autor del TFG titulado Evaluación de Extractos Vegetales y Bioactividad en el Manejo de Mosca Blanca Hemiptera: Aleocharidae (Semiothisa tabaci y Trialeurodes vaporariorum) en el cultivo de tomate (Solanum lycopersicum) en invernadero.

Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado. SI ☒ NO * ☐

*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: _____ año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwá y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

INFORMACIÓN DEL ESTUDIANTE:

Nombre Completo: Linda Michelle Arauz Madrid

Número de Carné: B49195 Número de cédula: PA0724936

Correo Electrónico: lindaarauz10@gmail.com

Fecha: 15 de abril de 2021 Número de teléfono: +507 64967304

Nombre del Director (a) de Tesis o Tutor (a): Helga Blanco Metzler

FIRMA ESTUDIANTE

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no sólo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwá.

INTRODUCCIÓN

La producción de hortalizas en Costa Rica por mucho tiempo se ha realizado en campo abierto por condiciones favorables del trópico húmedo. Sin embargo, los cambios constantes en el ambiente, el incremento de plagas y enfermedades, han dado paso a la adaptación de nuevas tecnologías que permitan reducir los impactos negativos en el cultivo (Ramírez-Vargas y Nienhuis 2012, Vargas y Nienhuis 2012). Dentro de los propósitos principales de producir cultivos en ambientes protegidos, se puede mencionar la disminución en el impacto de las condiciones adversas. A su vez, este tipo de producción lleva a las plantas a nuevos límites de crecimiento y producción, que pueden generar estrés crónico, lo que favorece el ataque de plagas y dificulta aún más su control (Reddy 2016a). Sumado a la adaptación de especies de *B. tabaci* en instalaciones agrícolas protegidas como invernaderos (Yao et al. 2017), se podría intensificar el efecto negativo en el cultivo.

Las moscas blancas, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) y *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) conocida como la mosca del invernadero, se encuentran ampliamente distribuidas en hábitats tropicales y subtropicales (Tsueda et al. 2014), y son consideradas como una de las plagas más importantes en la agricultura a nivel mundial, al disminuir más del 50 % de los rendimientos, *B. tabaci* es la especie más notoria (Ovalle et al. 2014). Ambas especies presentan amplio rango de plantas hospederas, de 200 a 600 respectivamente, sin embargo, comparten algunos anfitriones tales como el cultivo de tomate, donde generan daños directos e indirectos (Tsueda et al. 2014). Dentro de los daños indirectos, se puede mencionar la capacidad de transmisión de virus en hortalizas. *B. tabaci* transmite *Begomovirus*, *Carlavirus*, *Crinivirus*, *Ipomovirus* y *Torradovirus*; por otra parte *T. vaporariorum* trasmite los géneros *Crinivirus* y *Torradovirus* (Watanabe et al. 2018).

La mosca blanca *B. tabaci* es una de las principales plagas del cultivo de tomate a nivel mundial (Moreno-Ripoll et al. 2014); Es considerada un complejo de al menos 35 especies, donde sus diferenciaciones sólo pueden ser por medio de métodos moleculares (Wang y Liu 2016). Dentro del complejo de especies, *B. tabaci* Mediterranea (MED) conocida anteriormente como biotipo Q, es una de las que presenta mayor importancia por su capacidad de adaptación y transmisión de virus; lo que genera pérdidas en rendimiento y la resistencia a insecticidas con diferentes modos de acción (Roditakis et al. 2017); esta especie fue reportada por primera vez en Costa Rica en el 2009, en poblaciones de moscas blancas en cultivos de tomate y chile en ambientes protegidos (Guevara-Coto et al. 2011).

Los métodos de control utilizados en la actualidad para el control de dicha plaga se caracterizan por la aplicación frecuente de insecticidas sintéticos, lo cual ha provocado el desarrollo de resistencia a los mismos. Además, genera un aumento en los costos de control, peligro para la salud de los productores y el medio ambiente (Rakha et al. 2017). Para el control de las moscas blancas se han utilizado bioplaguicidas como herramientas alternativas, que presentan menor riesgo de generar resistencia en poblaciones de plagas (Smith et al. 2018), son biodegradables, económicos y no tóxicos para los seres humanos o insectos benéficos, debido a que son elaborados a partir de metabolitos de plantas (Hafeez-ur-Rehman et al. 2015) o microorganismos (Mascarín y Jaronski, 2016). Los extractos de plantas utilizados como bioplaguicidas buscan mantener las moscas blancas lejos de la planta, evitan que éstas se alimenten del cultivo, esto podría resultar en un efecto repelente y disuasivo que a su vez podría evitar la contaminación de virus a las plantas (Hilje Quirós, 2001).

En los últimos años, se han desarrollado insecticidas a bases de extractos de neem (*Azadirachta indica*, Meliaceae) debido a la alta eficiencia que esta presenta en el control de plagas. La alta actividad insecticida se debe al isómero tetranortriterpenoide azadiractina A, que se encuentra en la semilla (Pavela et al. 2009); su efecto se ha evaluado en diferentes órdenes de insectos como:

Lepidoptera (Adhav et al. 2018, Kamaraj et al. 2018), Diptera (Bezzar-Bendjazia et al. 2017, Oulhaci et al. 2017), Hemiptera (Smith et al. 2018) y Coleoptera (Humbert et al. 2018, Thompson et al. 2017), donde se han detectado efectos anti-alimentarios, al inhibir el crecimiento e intervenir en los procesos endocrinos.

El efecto disuasivo de los extractos de neem se ha reportado en Costa Rica para *B. tabaci* biotipo A (Hilje y Morales, 2008). Los compuestos derivados de estos extractos presentan actividad anti-alimentaria, repelente y propiedades tóxicas, contra más de 350 especies de artrópodos (Hafeez-ur-Rehman et al. 2015). Por otro lado, los extractos de ajo y chile también han sido evaluados para el control de mosca blanca en diferentes solanáceas, pero han presentado menor efecto repelente. Sin embargo, estos extractos presentan otras ventajas como efectos en el control de hongos (Hilje Quirós, 2001, Acosta et al. 2006, Jiménez-Martínez et al. 2013).

El control por medio de bioplaguicidas microbianos es otra de las herramientas que se ha utilizado en el manejo de insectos plaga por medio de hongos entomopatógenos (Arthurs y Dara, 2018, Jaber y Ownley, 2018), nematodos (Dolinski, 2016), virus (Nguyen et al. 2011) y bacterias (Anderson y Kim, 2018, Chandrasekaran et al. 2018). Dentro de los hongos entomopatógenos se presentan más 90 géneros y 700 especies que han resultado patogénicos contra insectos, dentro de los que se ubica *Beauveria bassiana* el cual tiene la capacidad de producir mortalidad en insectos del orden Hemiptera a la que pertenecen las moscas blancas (Ragunath et al. 2014, Khan et al. 2015).

JUSTIFICACIÓN

El cultivo de tomate es de gran importancia en la producción agrícola y presenta una alta demanda de consumo; es afectado por moscas blancas donde se encuentran a *B. tabaci* y *T. vaporariorum*, consideradas como las principales plagas que afectan la producción de este cultivo a nivel mundial, debido a la alta plasticidad genética, adaptabilidad y transmisión de virus que dificulta su control. Sumado a esto, datos de la FAO (2015) reportan que la población humana aumentará un 30% para el 2050 y con ello un incremento del 70% en la demanda de alimento. Ante esta situación, las investigaciones dirigidas hacia la protección de los cultivos presentan gran relevancia en el plano socioeconómico de la agricultura.

Hoy en día la producción de tomate en Costa Rica se enfrenta a una especie de *B. tabaci*, más agresiva, donde los métodos de control no han sido evaluados. Junto con *T. vaporariorum* en un mismo sistema de producción las cuales son capaces de transmitir diferentes virus y llegar a interactuar entre sí, esta situación evidencia la necesidad de generar investigación que permita evaluar métodos para el manejo de estas especies en condiciones de ambientes protegidos.

Esta investigación permite evaluar el uso de productos a base de extractos vegetales y hongos entomopatógenos como métodos alternativos para el manejo de moscas blancas, esto permitirá mejorar aspectos ambientales y sociales, al presentarse como una alternativa para producir alimentos que reducen los riesgos en las personas. Por lo tanto, se presentan como una investigación con proyección hacia una producción sostenible de alimentos.

1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de extractos vegetales y *Beauveria bassiana* en el manejo de mosca blanca (*Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum*) en el cultivo de tomate en invernadero.

OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto de extractos vegetales en las poblaciones de *B. tabaci* y *T. vaporariorum* en el cultivo de tomate en invernadero.
- Estimar el efecto de *Beauveria bassiana* en las poblaciones de *B. tabaci* y *T. vaporariorum* en el cultivo de tomate en invernadero.
- Evaluar el efecto de la mezcla de extractos vegetales y *Beauveria bassiana* en las poblaciones de *B. tabaci* y *T. vaporariorum* en el cultivo de tomate en invernadero.
- Analizar el efecto de la alternancia de aplicación de extractos vegetales y *Beauveria bassiana* en las poblaciones de *B. tabaci* y *T. vaporariorum* en el cultivo de tomate en invernadero.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Cultivo de tomate

3.1.1. Clasificación

El tomate fue clasificado como *Solanum lycopersicum* por Linneo en 1753, luego en 1754, Philip Miller lo reclasificó a su propio género llamándolo *Lycopersicum esculentum*. Después de dos siglos, por medio del uso de técnicas moleculares e información morfológica se logró confirmar la descripción de Linneo, clasificándose como género *Solanum* en la sección *lycopersicum* (Blanca et al. 2015, Gerszberg et al. 2015). El tomate (*S. lycopersicum* L.) es una de las 3000 especies que comprenden la familia Solanaceae con diferentes usos económicos como alimentos, medicinas y ornamentales (Knapp y Peralta, 2016).

3.1.2. Fenología

En el ciclo de vida del tomate se identifican tres etapas fenológicas. La etapa inicial se produce con la germinación de la semilla y se caracteriza por el aumento en la materia seca, donde la planta invierte su energía en la síntesis de nuevos tejidos de absorción y fotosíntesis. La segunda etapa es la vegetativa, donde el aumento de la materia seca es más lento, pero se alcanza el máximo desarrollo foliar, lo que implica mayor requerimiento de nutrientes para satisfacer las necesidades de la planta y mayor susceptibilidad a plagas, donde los daños causados pueden reducir el rendimiento cuando los niveles de infestación son elevados. Esta etapa termina con la floración, donde la mayoría de los cultivares deben estar por debajo de 40 °C para evitar la pérdida de flores.

La última etapa es la reproductiva con la fructificación, donde prácticamente se detiene el crecimiento de la planta y se movilizan los asimilados de la fotosíntesis hacia los frutos provocando la senescencia de la planta. En esta etapa, las plagas del follaje siguen siendo importantes, pero cuidar los frutos del ataque de plagas se convierte en prioridad. La duración de cada etapa va a estar influenciada por las condiciones del ambiente y el cultivar de tomate que se utilice, sin embargo, para que se dé una buena producción, la temperatura nocturna debe ser menor que la

diurna y debe estar en un rango de 13 °C a 26 °C (Bolaños-Herrera, 1998; Álvarez y Silvio, 2017).

3.1.3. Producción

El cultivo de tomate se puede cultivar en campo abierto o en invernadero, sin embargo, su productividad en el último sistema de producción es mayor, ya que aumenta la vida útil del fruto hasta aproximadamente 30 semanas, a diferencia de los tomates cultivados en campo abierto. El sabor del producto fresco es otra cualidad de la producción, por lo que los consumidores están dispuestos a pagar un precio superior al tomate cultivados en invernadero (Reddy, 2016b).

El uso de ambientes protegidos en Costa Rica para la producción agrícola, inició en los años 80, con miras a beneficiar la exportación de plantas ornamentales y flores. Sin embargo, para el 2003 se comenzó a utilizar invernaderos para la producción de hortalizas como chile dulce y tomate, donde se alcanzó un 11% del área cultivada en este sistema y un 28% se cultivaba en ambientes protegidos. Con el tiempo, este porcentaje ha ido en aumento, para el 2009 se pasó de un 11% a un 35% de hortalizas sembradas en invernaderos (Pérez, 2015).

La producción hortícola protegida se ha convertido en una alternativa para los productores agrícolas de Costa Rica ante las condiciones climáticas adversas. El uso de invernaderos en el trópico permite controlar variables de producción como el riego, fertilización, manejo de biomasa y el uso de sustrato. A diferencia de los sistemas de producción a campo abierto, en sistemas de producción controlados se podría dar la reducción de uso de pesticidas, además, se ha observado que en Costa Rica existe una diferencia de 4,6 kg/m² en productividad del tomate sembrado bajo invernadero que en campo abierto (Ramírez-Vargas y Nienhuis, 2012).

3.1.4. Importancia económica

El tomate es una de las solanáceas más consumidas a nivel mundial, lo cual permitió un impulso en producción global (Khan *et al.* 2017). En los últimos 50 años la producción mundial se ha multiplicado por 5,8, pasando de menos de 28 millones de toneladas en 1961 a 164 millones de toneladas en el 2013 (Colvine y Branthôme,

2016). De acuerdo con Durán-Mora y Guzmán-Hernández (2017) para el 2014 en Costa Rica 1 250,9 hectáreas se encontraban dedicadas al cultivo de tomate, conocido como uno de los cultivos hortícolas de exportación de mayor importancia, lo que aumentó las exportaciones de frutas madura e ingreso en las ventas del producto fresco.

3.2. Mosca Blanca

Existen más de 1500 especies de moscas blancas en el mundo dentro de las cuales el complejo de *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum* son las que generan mayor problema fitosanitarios en los cultivos (Das et al. 2017). De ambas especies, de *B. tabaci* es la más problemática a nivel mundial por su habilidad de adaptación, amplia gama de hospederos y capacidad de transmitir gran cantidad de virus (Simmons et al. 2015).

Históricamente se había considerado a *T. vaporariorum* como la mosca blanca de los invernaderos y a *B. tabaci* como la mosca blanca de la papa, pero con el paso del tiempo se ha observado que existe una interacción entre las especies, con una adaptación de *B. tabaci* a estructuras de producción. Ambas son plagas del cultivo de tomate, donde *T. vaporariorum* estaba relacionada a la producción de tomate en invernadero y *B. tabaci* en campo abierto, sin embargo, en los últimos 25 años se ha encontrado la presencia de ambas especies tanto en ambos sistemas de producción (Perring et al. 2018).

Las especies de moscas blancas, en este caso *B. tabaci* y *T. vaporariorum* comparten nichos ecológicos similares, sin embargo, cuando estas coexisten en la planta de tomate en invernadero, se ha identificado que se distribuyen de diferente manera, encontrando a *T. vaporariorum* en el estrato superior y medio, mientras *B. tabaci* en el estrato medio e inferior de la planta (Tsueda et al. 2014).

3.2.1. Especies de *Bemisia tabaci*

Se considera que *B. tabaci* es un complejo de al menos 35 especies crípticas; su diferenciación solo puede ser por medio de métodos moleculares (Wang y Liu, 2016). En los últimos 20 años las especies Medio Oriente-Asia Menor 1 (MEAM1) y

Mediterránea (MED), que se habían denominado comúnmente como los biotipos B y Q, han sido reconocidas dentro de las especies invasoras en el mundo (Wang y Yang, 2017).

Las especies de *B. tabaci* conocidas inicialmente como biotipo A y B se encontraban reportadas en el Costa Rica desde antes del 2001 en diferentes zonas de producción, donde el biotipo A predominaba en las zonas productoras de tomate y el biotipo B se restringía a zonas de producción de cucurbitáceas como melón, sandía y pepino (Hilje Quirós, 2001).

B. tabaci MED se reportó por primera vez en Costa Rica en el año 2009, en plantaciones de tomate y chile en ambientes protegidos (Guevara-Coto et al. 2011). La llegada de nuevas especies de *B. tabaci* ha provocado un desplazamiento de las especies que se encontraban establecidas, permitiendo que las que presenten mayores capacidades de adaptación predominen las zonas de producción agrícola como ha ocurrido en otros países como China donde la especie *B. tabaci* MED ha desplazado a MEAM1 (biotipo B) (Boykin 2014, Chu et al. 2010).

B. tabaci MED y MEAM1 se caracterizan por ser las especies más invasoras en zonas agrícolas, producir daños por alimentación directa, sus excreciones favorecen el crecimiento de fumagina y a su vez son vectores de más de 150 enfermedades virales, (Sugiyama et al. 2014, Hui y Evranuz, 2015, Wang y Liu, 2016). Estas dos especies difieren entre sí por características biológicas como la adaptabilidad a huésped, capacidad de transmitir virus, eficacia de copulación, composición de simbiosis hospederos y la expresión de resistencia al choque térmico e insecticidas. Esto ha dado como resultado que MEAM1 se adapte más a campos abiertos, mientras que MED es más competitiva y ha logrado adaptarse a instalaciones agrícolas protegidas como invernaderos (Yao et al. 2017). *B. tabaci* MED tiene una alta tasa reproductiva y alto nivel de resistencia a insecticidas representando una alta amenaza para los cultivos (Parrella et al. 2012), razón por la cual su identificación en Costa Rica ha sido alarmante, ya que presenta resistencia a los insecticidas neonicotinoides que son utilizados en el cultivo de tomate para el control de plagas (Guevara-Coto et al. 2011).

3.3. Distribución

La capacidad de adaptación a diferentes ambientes y su diversidad genética le ha permitido a *B. tabaci* distribuirse por todo el mundo (Khatun et al. 2018). Las especies más invasoras de *B. tabaci*, MEAM1 y MED se originaron en los desiertos de África nororiental, la Península Arábiga y el Medio Oriente de Asia; para luego extenderse al norte de África, regiones mediterráneas y otros países de diferentes continentes (Khatun et al. 2018).

3.4. Ciclo de vida

Las moscas blancas tienen un ciclo de vida entre 20 a 30 días a una temperatura de 21°C, humedad relativa optima de 75-80% para obtener un umbral de desarrollo para todas las etapas de aproximadamente 8,5°C logrando obtener hasta 15 generaciones por año en países tropicales. Los huevos son ovalados, inicialmente de color verde, pero se vuelven marrones o negros a medida que maduran, pueden llegar a medir 0,24 mm de largo; son depositados en el envés de las hojas jóvenes en un patrón circular incompleto y suelen tener una duración de eclosión de 4 a 7 días para *B. tabaci* y de 10 a 12 días para *T. vaporariorum*, dependiendo de las condiciones en que se encuentren (Capinera 2008; Moreno González y Fandiño Fiquitiva, 2017).

El estado de ninfa puede durar aproximadamente 20 días, inicialmente son planas con antenas y patas funcionales; el primer estadío mide 0,3 mm de longitud, es traslúcido y móvil, una vez emergido se aleja aproximadamente un centímetro del huevo e instala para alimentarse y mudar; hasta llegar a su cuarta etapa ninfal conocida como “pupa” alcanzando a medir 0,75 mm, es más grueso, opaco y con largos filamentos cerosos; en el caso de *B. tabaci* los estados ninfales van tomando una coloración amarillenta y pueden carecer de largos filamentos cerosos (Capinera 2008).

El adulto de *B. tabaci* es más pequeño, puede medir 1,0-1,3 mm de longitud y puede producir de 50 a 150 huevos con algunos registros de 300 huevos por hembra. Por otro lado, el adulto de *T. vaporariorum* emerge de la pupa, puede llegar a medir 1,0 – 2,0 mm de longitud, son de color blanco, ojos rojizos, tienen cuatro alas, visto desde arriba tienen una forma triangular porque las porciones distales de las alas

son más anchas que las basales (Capinera 2008; Moreno González y Fandiño Fiquitiva, 2017).

3.5. Daño

Las moscas blancas, *B. tabaci* y *T. vaporariorum* pueden encontrarse interactuando en invernaderos de vegetales y ornamentales, caracterizándose por sus efectos negativos al inhibir el crecimiento de las plantas por su alimentación, dañar hojas y frutos por formación de moho negro ó fumagina, y transmitiendo virus a las plantas (Sugiyama et al. 2013). Otra forma en que se comparan los daños generados por mosca blanca, es por daños directos, debido a la absorción de savia, la presencia de amarillamiento y debilitamiento. Además, el daño indirecto de reducción del área fotosintéticamente activa por el desarrollo de fumagina, el daño indirecto más importante es la capacidad de trasmisión de virus a las plantas (Castellanos, 2009; Reddy, 2016b).

3.6. Transmisión de virus

Las moscas blancas son vectores de virus de plantas, se conoce que existen un aproximado de 150 virus trasmitidos por mosca blanca y con el paso del tiempo, este número ha ido en aumento. La mayoría de los virus que se conocen son trasmitidos por *B. tabaci* por lo que se le da más importancia a esta especie, sin embargo, *T. vaporariorum* trasmite *Crinivirus* (Perring et al. 2018) tales como *Tomato chlorosis virus* (ToCV); el *Tomato torrado virus* (ToTV) del género *Torradovirus* (Verbeek et al. 2017) y *Beet pseudo yellows virus* (acrónimo) (Hosseini et al. 2015).

El género *Begomovirus* pertenece a la familia *Geminiviridae*, incluyen más de 200 especies en todo el mundo y son trasmitidos únicamente por *B. tabaci*, de forma circulativa y persistente. Dentro de este género se encuentra el *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) que es agente causal de la enfermedad del enrollamiento de la hoja amarilla del tomate que amenaza la producción mundial de tomate (Uchibori et al. 2013). Además del TYLCV, en Costa Rica existen varios virus de la misma familia que afectan el tomate donde se encuentra el virus del enrollamiento de la hoja de tomate de Sinaloa (*Tomato leaf curl Sinaloa virus*, ToLCSiV) y el virus del moteado

amarillo de la hoja del tomate (*Tomato yellow mottle virus*, ToYMoV) (Solozarno-Morales et al. 2017; Barboza et al. 2018).

A pesar de que *T. vaporariorum* pertenece a la misma familia que *B. tabaci* y comparten el mismo nicho reproductivo, no puede transmitir *Begomovirus* después de alimentarse de plantas infectadas por virus debido a que las estructuras de *Begomovirus* como el TYLCV no pueden atravesar las células epiteliales del intestino medio de *T. vaporariorum* (Uchibori et al. 2013).

3.7. Nivel de daño económico

El daño causado por la alimentación de artrópodos es uno de los mayores desafíos que enfrentan los productores de tomate en invernadero y campo abierto a nivel mundial, agravado por el hecho de plagas insectiles como la mosca blanca que son vectores de enfermedades (Wakil et al. 2018). El nivel de daño es un indicador de la densidad de población de la plaga, que existe en el cultivo de tomate que justifica un control inmediato.

En el caso de *B. tabaci*, se necesitan densidades muy altas para que se presenten daños directos por extracción de savia, mientras que los daños indirectos no requieren de una densidad alta para observar plantas con virus. El umbral crítico de *B. tabaci* en tomate es de 0,3 adultos por plantas en promedio, este promedio tan bajo está relacionado a la alta capacidad de la mosca para transmitir el virus, lo que evidencia la importancia establecer medidas preventivas y de control desde el inicio del cultivo, de manera que si se controla el vector se puede reducir o eliminar las enfermedades virales (Hilje, 2001; Vásquez et al. 2007). En *T. vaporariorum* se habla de 2 adultos por hoja en condiciones de invernaderos (Scotta et al. 2014).

3.8. Hospedero

Bemisia tabaci y *T. vaporariorum* son especies polífagas que pueden llegar a colonizar más de 600 especies de plantas entre cultivos, malezas y plantas silvestres. Sin embargo, muestran una preferencia a plantas hospederas que logran incrementar su potencial biótico, debido a que las plantas no solo son fuente de alimentos, sino también representan un refugio, lugar para el apareamiento y oviposición (Lorenzo et al. 2016). Perring et al. (2018) menciona que ambas moscas blancas tienen un amplio rango de hospederos de los cuales el tomate es un cultivo

clave, donde *B. tabaci* puede alimentarse de más de 900 plantas huéspedes, pero pueden presentar rangos de huéspedes limitados. En el caso de las especies MEAM1 y MED, que pueden alimentarse de muchas plantas hospederas diferentes. A diferencia, *T. vaporariorum* actualmente se estima que puede ser hospedera de 859 especies de plantas, 469 géneros y 121 familias.

3.9. Métodos de combate

Las medidas preventivas en el caso de *Bemisia tabaci* deben iniciar desde la producción de almácigos. Es deseable que los almácigos se produzcan libres de la presencia de este insecto para obtener plantas libres de virus y de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gellechidae). Se debe sembrar lejos de las áreas de producción o utilizar túneles cubiertos con malla fina de poro 50 (Hilje 2001; Urbaneja et al. 2013). Hilje (2001) también menciona que se debe mantener los primeros 60 días de edad de la planta de tomate libre de moscas blancas para que no se dé un efecto en la producción, esos 60 días incluyen 30 días de vivero y 30 después del trasplante.

Debido a la resistencia que pueden presentar las poblaciones de mosca blanca, se ha considerado el uso de productos de riesgo reducido como jabones insecticidas, aceites vegetales y extractos de plantas como una forma de medidas alternativas a los insecticidas convencionales, donde se ha logrado probar varios productos de riesgo reducido contra *B. tabaci* y *T. vaporariorum*; dando como resultado toxicidad, repelencia, disuasión de la alimentación (Moreau y Isman 2012).

3.10. Resistencia a insecticidas

En países donde las especies de *B. tabaci* se establecieron primero, los agricultores han utilizado habitualmente insecticidas químicos sintéticos de amplio espectro como los organofosforados, carbamatos y piretroides, sin embargo, se han generado informes de poblaciones resistentes a compuestos más nuevos, específicos incluyendo reguladores de crecimiento; esta resistencias a insecticidas está relacionada al uso excesivo y mal uso de estos productos, debido a la falta de alternativas disponibles (Erdogan et al. 2008).

4. METODOLOGÍA

4.1. Identificación molecular de la especie de mosca blanca

Muestras individuales de mosca blanca se recolectaron en invernadero para corroborar su especie. Se identificaron utilizando marcadores moleculares. Para lo anterior se tomaron muestras al azar de individuos recolectados en el invernadero. Un total de 12 individuos fueron seleccionados y analizados. La extracción del ADN y la identificación molecular se realizó en el Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM) de la Universidad de Costa Rica.

La extracción de ADN se realizó de forma individual mediante una modificación al método Chelex® (Walsh et al. 1991). Cada individuo se maceró en seco en un tubo de 1,5 mL y se agregó 30 µL de agua destilada. A estos tubos se les agregaron 30 µL de Chelex® al 50% y se completaron la homogenización. Se procedió a incubar la solución esa 56°C por 15 min y a 99°C por 3 min. Inmediatamente después se centrifugó a 14 000 rpm durante 5 min. El ADN se obtuvo al extraer 30 µL del sobrenadante de cada tubo.

Para la confirmación de la identidad de los individuos, se realizó una amplificación mediante PCR del gen mtCOI que codifica por la subunidad I de la enzima citocromo oxidasa (fragmento de 800 bp), utilizando los cebadores CI-J-2915 (5'-CACAMCTCTTTAAACTRTGA-3') y 801c (5'-TTGATTTTTTGGTCATCCAGAAGT-3') (Frohlich et al.1999). La reacción de PCR incluyó Dreamtaq™ PCR Master Mix (2X) a concentración final de 1 X, 3 µL de ADN y 0,3 µM de los cebadores antes mencionados para una de reacción de 25 µL. El perfil térmico fue de una desnaturalización inicial de 95 °C por 5 min, seguido por 34 ciclos de 95 °C por 1 min, 37 °C por 45 s y 70°C por 30 s y una extensión final de 72 °C por 5 min (Frohlich et al. 1999). Los productos de las amplificaciones se enviaron a purificar y secuenciar a la Empresa Macrogen Inc. (Corea del Sur). Las secuencias obtenidas se ensamblaron utilizando el programa Staden vrsn 4.0 y comparadas con secuencias de otras especies de mosca blanca obtenidas de la base de datos GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). El árbol filogenético

considerando 640 nucleótidos del gen citocromo oxidasa mitocondrial subunidad I (mtCOI) de individuos de *B. tabaci* MED y una secuencia de *B. tabaci* MAEAM1 utilizada como grupo externo (GenBank No. KP941428) proveniente de Sudán; en el caso de *T. vaporariorum* se considerando 540 nucleótidos y una secuencia de *T. ricin*). Las secuencias se alinearon con el programa MUSCLE. El árbol se estimó mediante interferencia Bayesiana por medio de Mr. Bayes 3.2.6 (Huelsensbeck, Ronquist, Nielsen & Bollback, 2001).

4.2. Localización de pruebas de campo

Este estudio se realizó en los invernaderos de Tecnocultivo Superior de Coris ubicados en el cantón de Cartago, provincia de Cartago a una altura de 1 418 m.s.n.m. La investigación se desarrolló hasta alcanzar la primera cosecha del cultivo de tomate, durante los meses de diciembre 2017, enero y febrero 2018.

4.3. Establecimiento del ensayo

Para el establecimiento del ensayo se utilizaron plántulas de tomate de la variedad Toreto, de 36 días de edad. El trasplante se realizó de forma manual entre los 36 y 38 días y las prácticas agronómicas del cultivo se realizaron con el sistema de la empresa.

4.4. Diseño experimental

En el estudio se utilizó un diseño de bloques al azar separados por mallas antiáfidos dentro de un invernadero de 19 125 m². Se realizaron cinco tratamientos de productos y un testigo con cinco repeticiones por tratamiento. Dentro de cada bloque de 1 283 m² de área total se establecieron seis parcelas de 213 m² cada una que representaron una repetición de cada tratamiento. El área experimental total fue de 7 698,6 m² para el establecimiento del experimento. Se utilizó una distancia de siembra entre plantas de 0,6 m y 1,7 m entre surcos para obtener una densidad de plantas de 23 500 plantas/ha. Cada bloque estuvo representado por 11 lineales de siembras y 11 hileras separaban entre bloques y 2 hileras entre tratamientos dentro de la parcela.

4.5. Tratamientos

Los productos se aplicaron por aspersión directa al follaje utilizando bombas de mochila con capacidad de 20 litros con boquillas de cono hueco a una presión de 40 psi con una frecuencia de aplicación semanal. Las aplicaciones de los productos se realizaron entre las 4:00 a.m. y las 8:00 a.m.

Tratamiento 1: ENLAZADOR® F-1 (Azadirachtina 4,1 %) es un fitoprotectante y fertilizante a base de extractos de neem, ajo y chile de la empresa ENLASA. Se aplicó en dosis de 50 mL por bomba de 20 L de agua.

Tratamiento 2: Mosquetero SL (*B. bassiana* 1x10⁹ UFC/ml) es un bioinsecticida a base de hongos entomopatógenos de la empresa ENLASA. Se aplicó en dosis de 100 mL por bomba de 20 L de agua.

Tratamiento 3: ENLAZADOR® F-1 + Mosquetero SL alternado, consistió en aplicar los productos en las dosis utilizadas en el tratamiento 1 y 2, pero con tiempo de 15 días entre aplicación de cada producto.

Tratamiento 4: ENLAZADOR® F-1 + Mosquetero SL. Este tratamiento consistió en mezclar ambos productos y aplicarlos en las dosis del tratamiento 1 y 2.

Tratamiento 5: AZA-DIRECT 1,2 EC (Azadirachtina 1,2 %) es el tratamiento comercial utilizado actualmente en el cultivo de tomate para el manejo de *B. tabaci* distribuido por Duwest Costa Rica, S.A. Se aplicaron en dosis de 100 mL por bomba de 20 l de agua.

Tratamiento 6: Testigo que consistió en aplicación de agua a las plantas.

4.6. Muestreos

Los muestreos se realizaron semanalmente en el surco central de cada parcela para evitar el efecto del borde y se realizaron en el tercio superior de las plantas. Se tomaron 10 muestras de folíolos por parcela para obtener un total de 60 folíolos por tratamiento a partir de los 15 días de trasplante. En las parcelas se realizaron el conteo de adultos por folíolo y luego se llevaron al laboratorio para contar el número de huevos y ninfas presente en los folíolos de cada tratamiento. Los muestreos se realizaron entre las 8:00 a.m. y las 11:00 a.m.

4.7. Variables evaluadas

Número de individuos por planta: se realizaron muestreos semanales en las hojas de tomate desde los 15 días después del trasplante (ddt) y se registraron el número de adultos, ninfas y huevos de las especies de mosca blanca encontradas.

Incidencia de virosis por planta: Se estimó el porcentaje de plantas con daño por *Begomovirus* transmitidos por *B. tabaci* por medio de la detección por hibridación dot blot en el tejido nuevo del tercio superior de las plantas de tomate. Se realizó un muestreo aleatorio a los 15 ddt y muestreo dirigido a plantas con posibles síntomas 42 ddt. Se seleccionarán tres plantas por parcela, que en total representaron un aproximado cerca del 10 % del total de plantas utilizadas para el experimento.

Hibridación Dot bot

La prueba de hibridación se realizó por medio del etiquetado con Direct Labeling and Detection System" y el sistema de detección con CDP-Star (AmershamTM, GE Healthcare, Buckingham, Reino Unido). Para ello, se colocó el ADN por medio de la impresión de tejido (tissue print) sobre una membrana de nylon tipo A (Pall Corporation, Glen Cove, NY, USA), y se fijó a la membrana mediante exposición a luz UV a 50 mJ (Gen Cámara UV Enlazador GS; BIO -RAD, Richmond, CA, USA). La sonda de ADN que se utilizó correspondió a un fragmento del gen de la proteína de la cápside (CP, por sus siglas en inglés) del aislamiento de Guatemala del virus del mosaico dorado del frijol (BGYMV-GT, por sus siglas en inglés). Ésta se preparó a partir de productos obtenidos a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) (400pb: pares de bases) obtenidos con los iniciadores específicos PBGGTv647 y PBGGTc1048 (Potter *et al.* 2003).

La hibridación se realizó durante la noche, a baja astringencia (55 °C). La sonda no hibridada se eliminó por medio de lavado de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. La sonda hibridada se detectó usando el reactivo de CDP-StarTM, que contiene el sustrato de la fosfatasa alcalina y produce una emisión de luz que puede ser detectado por autorradiografía. Un 10 % de las muestras que se detectaron como positivas, se corroboraron por PCR.

Temperatura y humedad relativa:

Para la medición de temperatura y humedad relativa se colocaron datalogger de la marca HOBO® pro series en el centro de cada bloque de tratamiento para registrar los datos cada 30 minutos y la extracción de datos se realizó cada 20 días utilizando el software BoxCar. Una vez obtenidos los datos se relacionaron con los resultados de poblaciones de moscas blancas en el invernadero utilizando programa estadístico R (versión3.4.1).

4.8. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el programa estadístico R (versión3.4.1). Para analizar los datos se utilizó el modelo logístico el cual permite establecer una relación entre la probabilidad de presencia/ausencia de huevos, adultos o ninfas con respecto a los tratamientos.

Modelo logístico:

$$\log \left(\frac{\pi_j}{1 - \pi_j} \right) = \alpha + \tau_j$$

donde π_j es la probabilidad de presencia de huevos, adultos o ninfas en el j-ésimo tratamiento.

En el análisis de los resultados del modelo logístico se utilizó el concepto de propensión que es la razón entre la probabilidad de presencia a la probabilidad de ausencia. La propensión de un evento está entonces relacionada a la probabilidad de ocurrencia y el efecto de un tratamiento se analiza mediante la razón de propensiones (OR, por sus siglas en inglés). Se establece que un OR igual a 1 equivale a decir que dos tratamientos tienen la misma propensión y, por ende, la misma probabilidad de ocurrencia del evento. Así mismo, si el OR es mayor a 1, el tratamiento que está en el denominador tendrá una mayor probabilidad de ocurrencia del evento que aquél que está en el denominador. Entonces los resultados del análisis de la regresión logística se expresarán en términos de OR y si éstos son significativamente mayores a 1 al realizar comparaciones de pares de tratamientos.

La cantidad de huevos, adultos y ninfas se evaluaron por medio del modelo Poisson para los casos en donde la cantidad fue mayor a cero y se relacionó con los tratamientos.

Modelo Poisson:

$$\log(\mu_j) = \alpha + \tau_j$$

donde μ_j es la media del número de huevos, adultos o ninfas en el j-ésimo tratamiento.

Similar a lo que se planteó con el OR para el caso logístico, cuando se usa el modelo Poisson se comparan los promedios de dos tratamientos mediante una razón de medias. Una razón igual a 1 corresponde a una situación en la que dos tratamientos tienen el mismo promedio, mientras que una razón mayor a 1 indica que el tratamiento que está en el numerador tiene una media mayor que el que está en el denominador.

5. RESULTADOS

5.1. Identificación molecular de moscas blancas

La identificación de las especies dentro de la población de moscas blancas se realizó por medio de métodos moleculares. Las amplificaciones de PCR con iniciadores específicos para géneros y especies de mosca blanca (Andreason et al. 2017) dieron como resultado que el 83,4% amplificaron para *T. vaporariorum*, mientras el 16,6% para *B. tabaci* MED, lo que permite indicar que la especie predominante de mosca blanca en el invernadero fue *T. vaporariorum*, y se confirma que la especie de *B. tabaci* es de la variedad Mediterránea. Se secuenció una región del mtCOI de los 12 individuos de mosca blanca identificados previamente con PCR. Se encontró que la población de la especie de *B. tabaci* corresponde para haplotipos MED-i y otra no se alineó por ningunos de los haplotipos descubiertos en MED (Figura 1). La secuencia de MED-i utilizada para el árbol filogenético es la No. KJ606633 en el GenBank, la cual fue encontrada en cultivos hortícolas en Argentina. Este haplotipo también fue descubierto por Barboza et al (2019) en Costa Rica (GenBank No. KY441492).

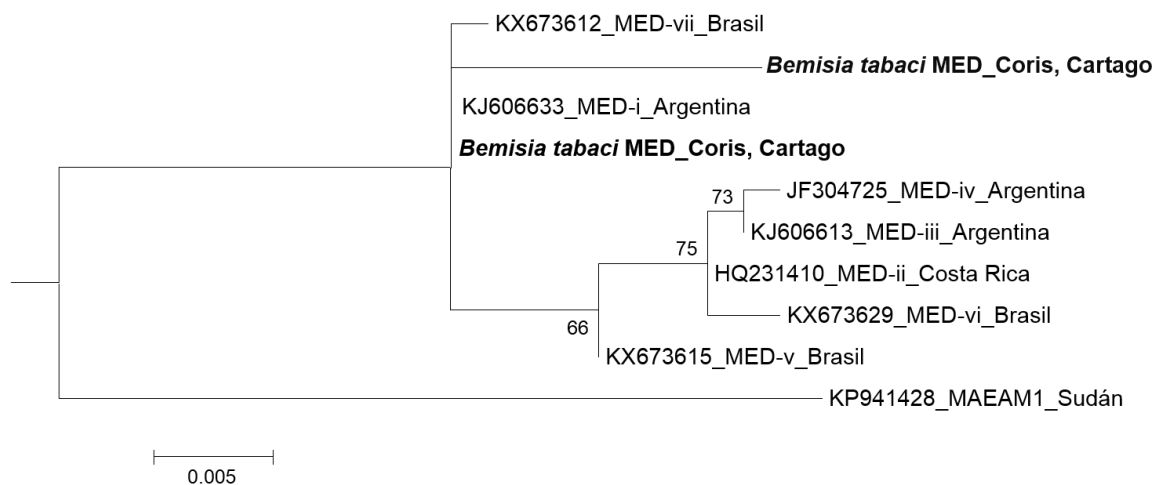


Figura 1. Árbol filogenético considerando 640 nucleótidos del gen citocromo oxidasa mitocondrial subunidad I (mtCOI) de individuos de *B. tabaci* MED con secuencias representativas de los reportados en América y una secuencia de *B. tabaci* MAEAM1 utilizada como grupo externo (GenBank No. KP941428)

proveniente de Sudán. Las secuencias se alinearon con el programa MUSCLE. El árbol se estimó mediante interferencia Bayesiana. Los números en la barra significan las probabilidades Bayesiana y los haplotipos en negrita son los identificados en el estudio.

Para las especies de *T. vaporariorum* identificadas en este experimento, se amplificó y secuenció una región parcial de citocromo oxidasa mitocondrial subunidad I (mtCOI) de 10 individuos. Se encontró un solo haplotipo denotado como Tv-i que concuerda con la secuencia encontrada en ornamentales en España (GenBank AM179446), y en tomate en Costa Rica (GenBank KY441523) (Barboza et al. 2019) (Figura 2).

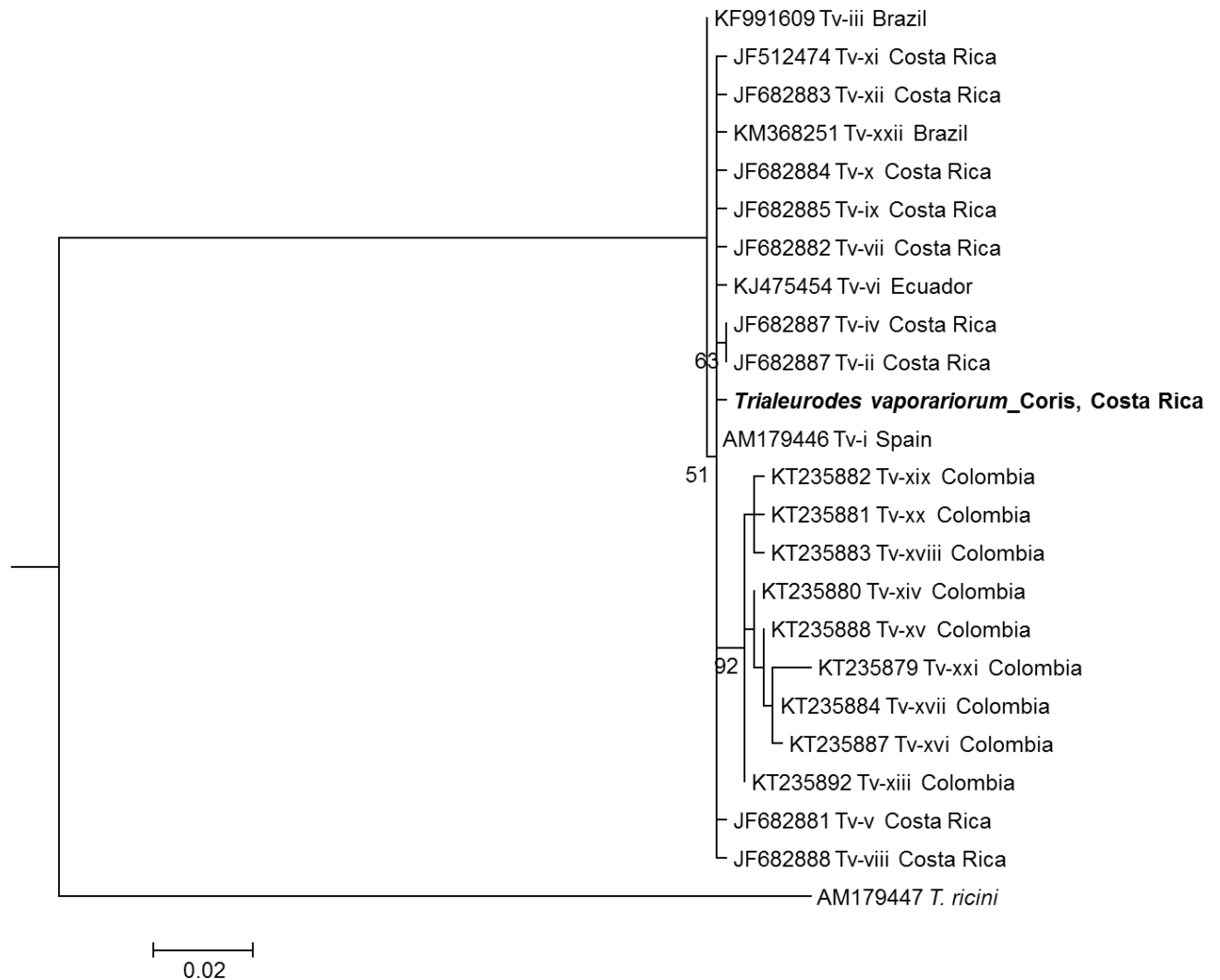


Figura 2. Árbol filogenético considerando 540 nucleótidos del gen citocromo oxidasa mitocondrial subunidad I (mtCOI) de individuos de *T. vaporariorum* con secuencias representativas de los reportados en América y el mundo y una secuencia de *T. ricini* MAEAM1 (GenBank No. AM179447) proveniente de España utilizada como grupo externo. Las secuencias se alinearon con el programa MUSCLE y el árbol se estimó mediante interferencia Bayesiana. Los números en la barra significan las probabilidades Bayesiana y los haplotipos en negrita son los identificados en el estudio.

3.1. Evaluación de tratamientos en mosca blanca

Bemisia tabaci

Los conteos realizados de los diferentes estados del ciclo de vida de *B. tabaci* MED, se evaluaron por medio de un modelo logístico con el fin de observar la relación entre la presencia/ausencia respecto a los tratamientos, de manera que se lograra comparar todos los tratamientos entre ellos. De las comparaciones realizadas solo se muestran las que por razón de propensiones (OR, por sus siglas en inglés) presentaron diferencias significativas. Donde el OR fue mayor a 1, un OR igual a 1 equivale a decir que dos tratamientos tienen la misma propensión, por ende, la misma probabilidad de ocurrencia del evento.

Para cada caso, se determinó el límite inferior del OR con un 95% de confianza, lo que quiere decir que se espera que el verdadero OR pueda ser igual o mayor que el valor que se presenta. En la evaluación de adultos, se encontró que, en comparación al testigo absoluto, el tratamiento Enlazador F-1 y Mosquetero mezclados presentaron un OR de 2.04, lo que indica que las plantas que se apliquen con agua tienen una propensión 2.04 veces más que presente adultos de *B. tabaci* MED en comparación a la aplicación de Enlazador F-1 y Mosquetero mezclados. Seguido del testigo absoluto en comparación al testigo comercial con 1,86, mientras que el tratamiento Enlazador F-1 y Mosquetero alternado (Enlazador F-1 y Mosquetero aplicados de forma alternada semanalmente) presentó un valor de 1,52 y el Enlazador F-1 con 1,24. El tratamiento de Mosquetero manifestó también mayor propensión para la presencia de adultos con respecto al tratamiento de Enlazador F-1 y Mosquetero mezclados (OR=1,82), testigo comercial (OR=1,66), Enlazador F-1 y Mosquetero alternados (OR=1,36) y Enlazador (OR=1,11) (Cuadro 1).

La evaluación sobre ausencia y presencia de huevos de *B. tabaci* MED, se encontró que el testigo absoluto presentó un OR de 2,26 al comparar contra el testigo comercial, es decir, las plantas que se apliquen con agua tienen una propensión 2,26 veces más que se presenten huevos de *B. tabaci* MED en comparación a cuando se apliquen con el testigo comercial. Al comparar el testigo absoluto con el

tratamiento Enlazador F-1 y Mosquetero mezclados poseen un valor del OR más bajo de 1,28; y de 1,12 al aplicarlo de forma alterna. De igual manera, el tratamiento de Mosquetero presentó mayor propensión en comparación con el testigo comercial (OR=1,98) y Enlazador F-1 y Mosquetero aplicados de forma mezclada (OR=1,12). El tratamiento de Enlazador F-1 presentó solo diferencial al compararlo con el testigo comercial con un OR de 1,72; por último, el tratamiento de Enlazador F-1 y Mosquetero aplicados de forma alternada con respecto al tratamiento comercial, con un OR de 1,20 (Cuadro 1).

La presencia de ninfas con respecto a los tratamientos solo presentó cuatro comparaciones significativas, donde la mayor diferencia se encontró en el tratamiento de Mosquetero en comparación del testigo comercial, con un OR de 1,87; esto significa que al aplicar con el tratamiento Mosquetero, las plantas tienen una propensión 1,87 mayor a que si se aplica con el tratamiento comercial. Seguida del testigo absoluto con un OR de 1,73 en comparación del testigo absoluto. El tratamiento con Enlazador F-1 en comparación con el testigo comercial tuvo un OR de 1,60 y el tratamiento con Enlazador F-1 en comparación con el tratamiento de Enlazador F-1 y Mosquetero aplicados alternados obtuvo un OR de 1,22 (Cuadro 1).

Cuadro 1. Presencia de *Bemisia tabaci* a tratamientos de extractos vegetales, hongos entomopatógenos y testigos aplicados en el cultivo de tomate en invernadero durante los meses de octubre 2017 a febrero 2018 en Coris, Cartago. Valores de la razón de propensiones (OR) con un límite inferior de 95% de confianza.

Tratamientos	Adulto	p-valor	Huevo	p-valor	Ninfas	p-valor
EnlazadorF-1 - Testigo comercial	-		1,72*	0,0000	1,60*	0,0010
Mosquetero- EnlazadorF-1	1,11	0,0039	-	-	-	-
Mosquetero- Alternados	1,36	0,0003	-	-	1,22	0,0054
Mosquetero- Mezclados	1,82*	0,0000	1,12	0,0035	-	-
Mosquetero- Testigo comercial	1,66*	0,0000	1,98*	0,0000	1,87*	0,0002
Alternados- Testigo comercial	-	-	1,20	0,0024	-	-
Testigo absoluto- EnlazadorF-1	1,24	0,0008	-	-	-	-
Testigo absoluto- Alternado	1,52*	0,0000	1,12	0,0036	-	-
Testigo absoluto- Mezclado	2,04*	0,0000	1,28	0,0005	-	-
Testigo absoluto- Testigo comercial	1,86*	0,0000	2,26*	0,0000	1,73*	0,0005

*valores que superan un 50% de probabilidad

Una vez que se identificaron los tratamientos que presentaron adultos, huevos y ninfas mayores a 0, se modeló la diferencia en cantidad con respecto a los tratamientos por medio del modelo Poisson. Con respecto a la cantidad de adultos se encontró que el testigo absoluto presentó una razón de medias de 2,89 en

comparación del tratamiento de Enlazador F-1 y Mosquetero aplicados juntos, lo que indica que las plantas que se apliquen con agua tienen un promedio 2.89 veces más que presenten mayor cantidad de adultos de *B. tabaci* en comparación a cuando se apliquen con Enlazador F-1 y Mosquetero mezclados; al comparar estos tratamientos con el testigo comercial se encontró una razón de 2,21. Por otro lado, el tratamiento de Enlazador F-1 y Mosquetero aplicados alternados obtuvo una razón de 1.59 con respecto al Enlazador F-1 y Mosquetero aplicados mezclados (Cuadro 2).

Los tratamientos con diferencias estadísticas con respecto a la cantidad de huevos observados muestran al Enlazador F-1 con respecto al tratamiento Enlazador F-1 y Mosquetero aplicados de forma alterna con una razón de 1,57; de 1,03 cuando se aplicaron mezclados; de 1,19 contra el tratamiento comercial y de 1,37 contra el testigo absoluto. El tratamiento Mosquetero presentó una razón de 1,30 en comparación al tratamiento Enlazador F-1 y Mosquetero aplicados de forma alterna, y 1,14 contra el testigo absoluto. El Enlazador F-1 y Mosquetero aplicados mezclados presentó una razón de 1,19 contra tratamiento de Enlazador F-1 y Mosquetero aplicados mezclados y de 1,03 contra el testigo absoluto. A diferencia de los huevos, el número de ninfas encontradas solo presentaron una diferencia significativa, para la comparación del tratamiento Enlazador F-1 y el testigo absoluto con una razón de 1,48 (Cuadro 2).

Cuadro 2. Número de *Bemisia tabaci* en tratamientos de extractos vegetales, hongos entomopatógenos y testigos aplicados en el cultivo de tomate en invernadero durante los meses de octubre 2017 a febrero 2018 en Coris, Cartago. Valores de la razón de medias con un límite inferior de 95% de confianza.

Tratamientos	Adulto	p-valor	Huevo	p-valor	Ninfa	p-valor
Enlazador F-1 – Alternados	-	-	1,57*	0,0000	-	-
Enlazador F-1 – Mezclados	-	-	1,03	0,0060	-	-
Enlazador F-1 - Testigo comercial	-	-	1,19	0,0002	-	-
Enlazador F-1 - Testigo absoluto	-	-	1,37	0,0000	1,48*	0,0004
Mosquetero – Alternados	-	-	1,30	0,0000	-	-
Mosquetero - Testigo absoluto	-	-	1,14	0,0001	-	-
Alternados - Mezclados	1,59*	0,0035	-	-	-	-
Mezclados - Alternados	-	-	1,19	0,0001	-	-
Mezclados - Testigo absoluto	-	-	1,03	0,0051	-	-
Testigo comercial – Mezclados	2,21*	0,0002	-	-	-	-
Testigo absoluto – Mezclados	2,89*	0,0000	-	-	-	-

*valores que superan un 50% de probabilidad.

Unido a los datos de promedios se evaluó el comportamiento poblacional de las moscas blancas. Los datos recolectados de la población se transformaron por modelo logístico donde se usó el concepto de propensión y se observó su comportamiento en el tiempo del experimento de cero días hasta los 80 días después del trasplante. Los primeros adultos de *B. tabaci* se observaron a los 23 ddt en los tratamientos Mosquetero y Mosquetero-Enlazador F-1 aplicados de forma alterna. El testigo absoluto presentó adultos hasta después de los 30 ddt. A los 60 ddt solo el tratamiento comercial y el Enlazador y Mosquetero alternado y mezclado mantuvieron las poblaciones debajo de las del testigo absoluto. Después de los 80 ddt el tratamiento de Mosquetero había alcanzado poblaciones similares al testigo absoluto y el tratamiento comercial con el Enlazador F1+Mosquetero Alternado (Figura 3). De acuerdo a Hilje (2001) el nivel crítico de adultos para *B. tabaci* es de 0,3 individuos por planta de tomate, este promedio fue alcanzado en los tratamientos de Mosquetero y el testigo absoluto.

Al igual que los adultos de *B. tabaci*, también se evaluó la población de huevos. El máximo de huevos encontrados se dio a las 80 ddt en todos los tratamientos. A pesar que en el tratamiento Mosquetero y Enlazador F1+Mosquetero Alternado fueron los primeros en tener presencia de adultos, fue Mosquetero el primero en presentar huevos a los 22 ddt se y a los 30 ddt se encontraron en el tratamiento de Enlazador y Mosquetero mezclado. El testigo absoluto y Enlazador F1 presentaron huevos hasta los 39 ddt, Enlazador F1+Mosquetero alternado a los 45 ddt y el último fue el testigo comercial a los 50 ddt. El testigo comercial fue el único que no superó la población de huevos presentadas en el testigo absoluto (Figura 4). A diferencia de los otros estados de *B. tabaci*, las ninfas mantuvieron mayores fluctuaciones poblacionales en el tiempo. La primera presencia se dio a los 30 días en el testigo absoluto y, los tratamientos de Enlazador F-1+Mosquetero Alternado y el testigo comercial fueron los únicos que no superaron los niveles de testigo absoluto (Figura 5).

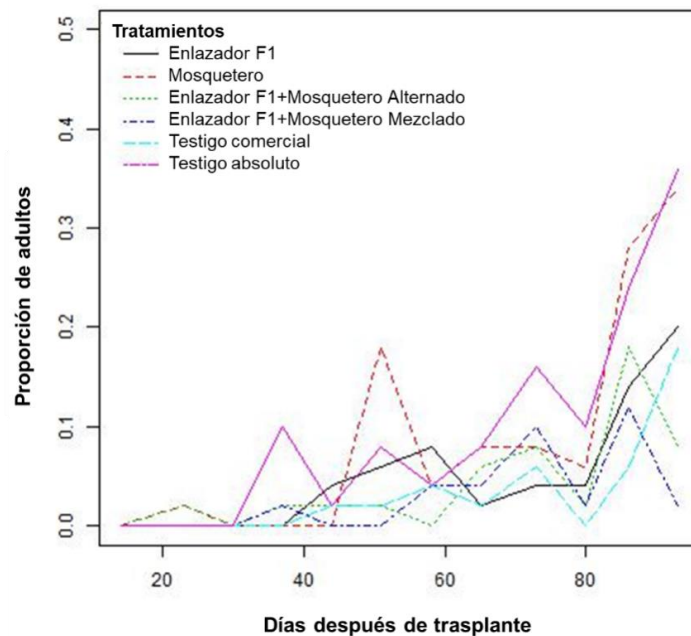


Figura 3. Fluctuación de proporción de adultos de *Bemisia tabaci* MED en el cultivo de tomate en invernadero durante los meses de octubre 2017 a febrero 2018 en Coris, Cartago.

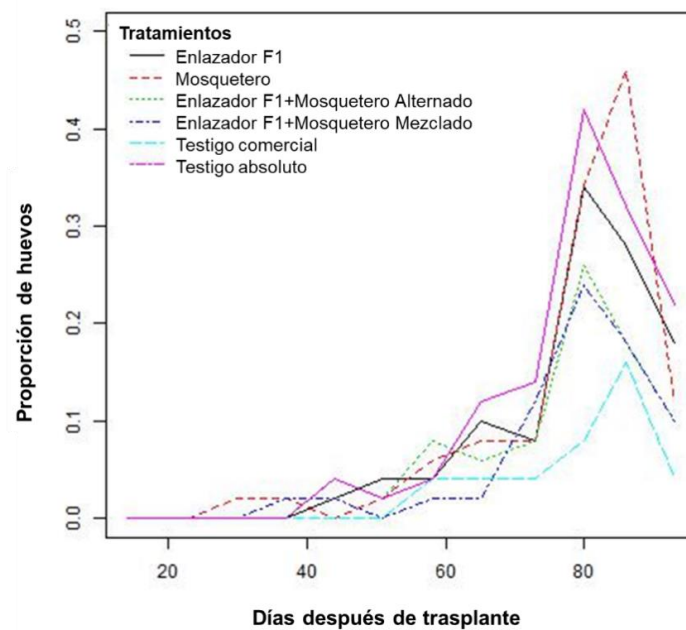


Figura 4. Fluctuación de proporción de huevos de *Bemisia tabaci* MED en el cultivo de tomate en invernadero durante los meses de octubre 2017 a febrero 2018 en Coris, Cartago.

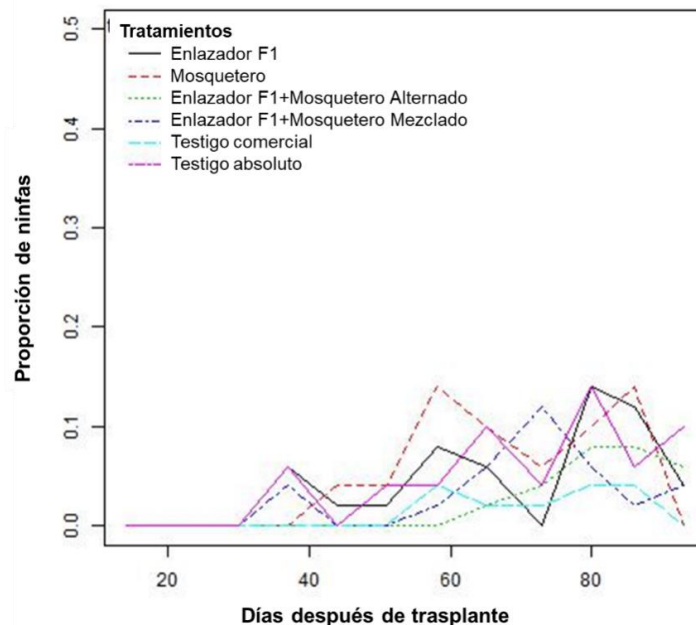


Figura 5. Fluctuación de proporción de ninfas de *Bemisia tabaci* MED en el cultivo de tomate en invernadero durante los meses de octubre 2017 a febrero 2018 en Coris, Cartago.

Trialeurodes vaporariorum

El conteo de los diferentes estados del ciclo de vida de *T. vaporariorum*, se evaluó de manera similar al de *B. tabaci*, mediante el uso de modelo logístico presencia/ausencia con respecto a los tratamientos. En la población de adultos de *T. vaporariorum* se presentaron diferencias significativas donde el OR fue mayor a 1 en las comparaciones de Mosquetero con relación al testigo comercial (1,99) y el testigo absoluto contra el testigo comercial (1,81), lo que equivale a decir que el tratamiento de Mosquetero y testigo absoluto tienen misma propensión y, por ende, la misma probabilidad de presencia de *T. vaporariorum*.

La comparación de presencia de huevos de *T. vaporariorum* fue mayor en los tratamientos Enlazador (OR=2,00), Alternados (OR=1,86), Mosquetero (OR=1,63) y testigo absoluto (1,55) en comparación del testigo comercial, lo que indica que dichos tratamientos tienen mayor probabilidad de presencia de huevos en comparación con el testigo comercial, mientras que en las comparaciones de

presencia de ninfa la mayor presencia se encontró en la comparación del tratamiento Mosquetero contra el testigo comercial (OR=3,33), seguido por el tratamiento alternado (OR=2,32), Mezclado (OR=2,23) y Enlazador (OR=1,85); todos comparados con el tratamiento comercial. La comparación que presentó un menor OR fue la comparación del tratamiento Mosquetero con respecto a Enlazador (OR=1,17) lo que indica que al aplicar Mosquetero habrá una probabilidad de 1,17 OR de presencia de ninfas en comparación si se aplica Enlazador (Cuadro 3).

Cuadro 3. Presencia de *Trialeurodes vaporariorum* a tratamientos de extractos vegetales, hongos entomopatógenos y testigos aplicados en el cultivo de tomate en invernadero durante los meses de octubre 2017 a febrero 2018 en Coris, Cartago. Valores de la razón de medias con un límite inferior de 95% de confianza.

Tratamientos	Adulto	p- valor	Huevo	p- valor	Ninfas	p- valor
Enlazador F-1 - Testigo comercial	-	-	2,00*	0,0000	1,85*	0.0000
Mosquetero-Enlazador F-1	-	-	-	-	1,17	0.0016
Mosquetero- Testigo comercial	1,99*	0,0007	1,63*	0,0001	3,33*	0,0000
Alternados- Testigo comercial	-	-	1,86*	0,0000	2,32	0,0000
Mezclado- Testigo comercial	-	-	-	-	2,23*	0,0000
Testigo absoluto- Testigo comercial	1,81*	0,0014	1,55*	0,0002	2,32*	0,0000

*valores que superan un 50% de probabilidad

Tomando en cuenta las diferencias en las comparaciones de presencia de *T. vaporariorum*, se determinó la diferencia en promedios entre los tratamientos. En el caso de las comparaciones de adultos no se encontraron diferencias significativas, sin embargo, si se encontró en la etapa de huevo con un valor máximo de 2,17 OR en la comparación del tratamiento absoluto con el tratamiento mezclado. El testigo absoluto también presentó mayor cantidad de huevos en las comparaciones con el testigo comercial (OR=1,91) y alternados (OR=1,77).

El tratamiento de Enlazador mostró diferencia estadística en promedios de huevos en las comparaciones con el tratamiento mezclado (OR=1,92), testigo comercial (OR=1,69), alternados (OR=1,57) y Mosquetero (OR=1,03); mientras que el tratamiento de Mosquetero presentó una única diferencia estadística contra el tratamiento mezclado de 1,53 OR. En las ninfas, las diferencias estadísticas en promedios se presentaron en los tratamientos Enlazador (OR=2,15), alternados (OR=1,97) y Mosquetero (OR=1,89) en comparación con el testigo comercial, lo que indica que el testigo comercial presentaba menor cantidad de ninfas en las plantas tratadas (Cuadro 3).

Cuadro 4. Número de *T. vaporariorum* en tratamientos de extractos vegetales, hongos entomopatógenos y testigos aplicados en el cultivo de tomate en invernadero en invernadero durante los meses de octubre 2017 a febrero 2018 en Coris, Cartago. Valores de la razón de medias con un límite inferior de 95% de confianza.

Tratamientos	Adulto	p-valor	Huevo	p-valor	Ninfas	p-valor
Enlazador- Mosquetero	-	-	1,03	0,0029	-	-
Enlazador- Alternados	-	-	1,57*	0,0000	-	-
Enlazador- Mezclados	-	-	1,92*	0,0000	-	-
Enlazador- Testigo comercial	-	-	1,69*	0,0000	2,15*	0,0060
Mosquetero- Mezclados	-	-	1,53*	0,0000		
Mosquetero- Testigo comercial	-	-	-	-	1,89*	0,0000
Alternados- Testigo comercial	-	-	-	-	1,97*	0,0000
Testigo absoluto - Alternados	-	-	1,77*	0,0000	-	-
Testigo absoluto - Mezclados	-	-	2,17*	0,0000	-	-
Testigo absoluto - Testigo comercial	-	-	1,91*	0,0000	2,05*	0,0000

*valores que superan un 50% de probabilidad

Al igual que para *B. tabaci*, se evaluó la fluctuación de proporción de la población de *T. vaporariorum*. Los datos recolectados se transformaron por modelo logístico donde se usó el concepto de propensión y se observó su comportamiento en el tiempo del experimento de cero días hasta los 80 ddt. A diferencia de los adultos de *B. tabaci*, los de *T. vaporariorum* se encontraron a los 30 ddt en el testigo absoluto

y Mosquetero, mientras que en Enlazador F1 se detectaron hasta después de los 40 ddt, Enlazador F1 + Mosquetero alternado a los 50 ddt y los últimos en presentar adultos fueron el testigo comercial y Enlazador F1 + Mosquetero a los 65 ddt. Después de los 80 ddt los tratamientos presentaron un aumento en la población de adultos especialmente Mosquetero, Enlazador F1+Mosquetero y el testigo absoluto (Figura 6).

Se encontraron huevos de *T. vaporariorum* a partir de los 20 ddt en los tratamientos de Mosquetero y testigo comercial, sin embargo, el testigo absoluto y Enlazador F1 presentaron huevos después de los 40 ddt. La presencia de huevos de *T. vaporariorum* tienen dos aumentos significativos, a los 50 ddt y a los 80 ddt. (Figura 7).

La población de ninfas aumentó en el tiempo. La primera presencia de ninfas se dio en el testigo absoluto a los 38 ddt, pero después de los 42 días, Enlazador F1 y Mosquetero superaron al testigo absoluto. Las ninfas en el tratamiento Enlazador F1 + Mosquetero alternado y el testigo absoluto se mantuvieron por debajo del testigo absoluto. El tratamiento comercial fue el que menos ninfas presentó (Figura 8).

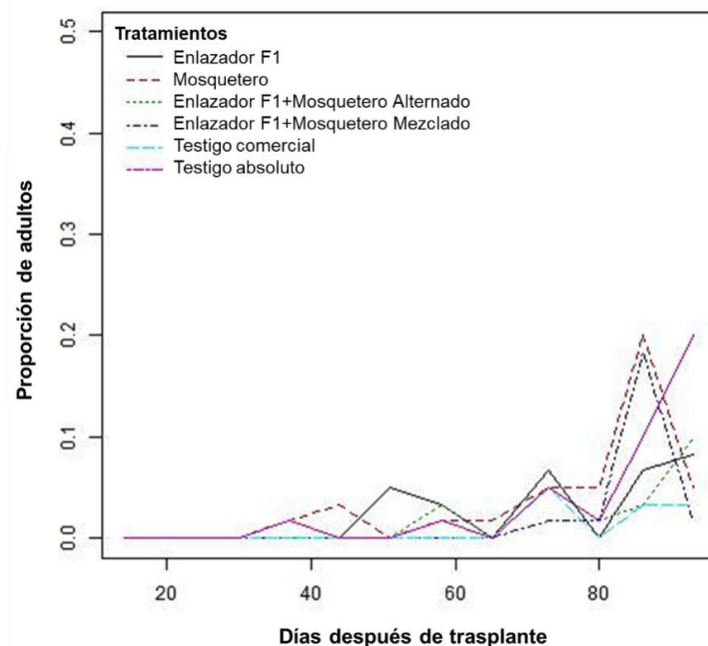


Figura 6. Fluctuación de la proporción de adultos de *Trialeurodes vaporariorum* en el cultivo de tomate en invernadero durante los meses de octubre 2017 a febrero 2018 en Coris, Cartago.

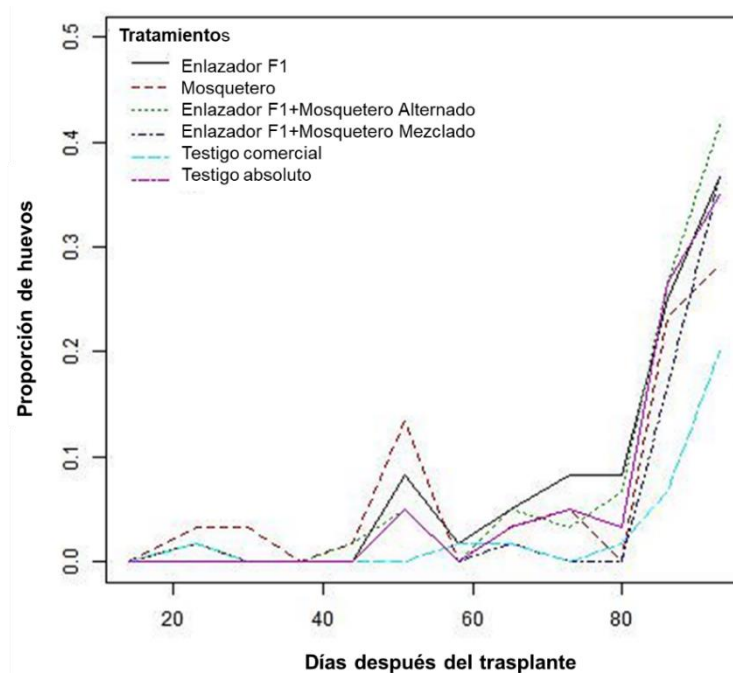


Figura 7. Fluctuación de proporción de huevos de *Trialeurodes vaporariorum* en el cultivo de tomate en invernadero durante los meses de octubre 2017 a febrero 2018 en Coris, Cartago.

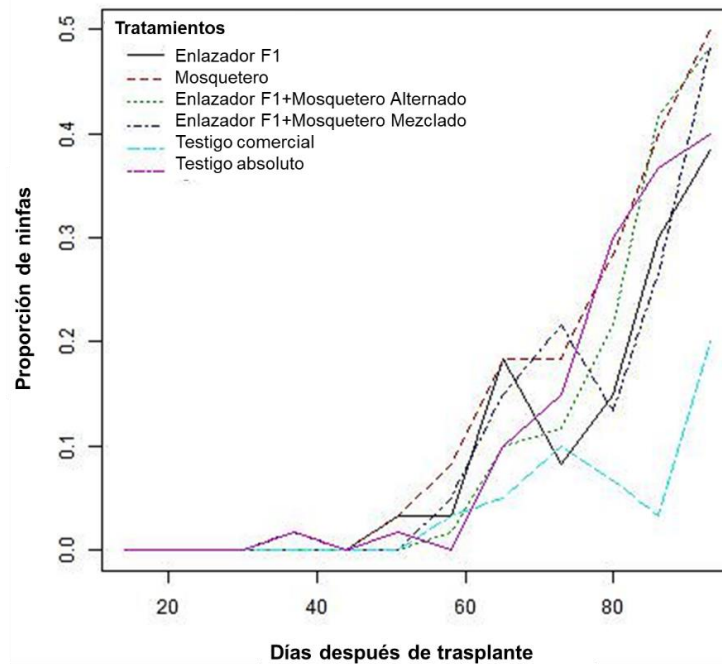


Figura 8. Fluctuación de proporción de ninfas de *Trialeurodes vaporariorum* en el cultivo de tomate en invernadero durante los meses de octubre 2017 a febrero 2018 en Coris, Cartago.

3.1. Estimación del efecto de temperatura y humedad relativa en mosca blanca

Se evaluó el efecto de la temperatura y la humedad en la población de las dos especies de moscas blancas en invernadero. En la Figura 9 y 10 se muestra la dispersión de los adultos, huevos y ninfas de acuerdo a la temperatura y humedad relativa día que corresponde a los momentos de muestreo. Las líneas punteadas significan los intervalos de confianza, la línea roja indica la tendencia de los datos, mientras que la línea verde indica que la tendencia de los datos es lineal, lo que permite decir que existe una relación entre los adultos, huevos y ninfas presentes con relación a la temperatura y humedad relativa. Las cajas a los lados de cada gráfico indican la concentración de los datos y el promedio de temperatura y humedad relativa y el estado fenológico evaluado, mientras que los puntos son datos atípicos.

La temperatura día promedio del invernadero fue de 26°C y la humedad relativa día promedio fue de 69% aproximadamente. En ambas especies se observó que entre mayor es la temperatura menor es la población de adultos, huevos y ninfas, y entre mayor humedad relativa mayor es la concentración de adultos, huevos y ninfas.

En el caso de adultos se observó que en *B. tabaci* MED hay menos distribución y no alcanza a más de 5 individuos en la temperatura más favorable (Figura 9A), mientras que *T. vaporariorum* presentó más individuos presentando una caída en la población después de los 22°C y un aumento en humedades relativas mayores a 70% (Figura 10AyB). Es importante recordar que en la identificación de especies presentes en el invernadero la mayoría de población era *T. vaporariorum*.

La población de huevos al igual que en los adultos fue menor en *B. tabaci* MED en comparación a *T. vaporariorum*. Se observó un mayor número de huevos de *B. tabaci* con temperaturas de 22°C y 27°C (Figura 10C), sin embargo, los huevos de *T. vaporariorum* presentaron una mayor distribución con relación a la temperatura en el invernadero. Con respecto a la humedad relativa se observó un aumento de huevos después del 70 %, similar que en los adultos (Figura 10D).

Las ninfas tuvieron un comportamiento diferente a los demás estados de desarrollo de ambas especies; se presentó una mayor población de ninfas de *B. tabaci* alcanzando conteos de 100 ninfas con una mayor concentración entre 20°C a 22°C y 25°C a 27°C y un aumento a humedades relativas mayores a 70% (Figura 10E y F). *T. vaporariorum* presentó poblaciones de ninfas menores a 20 °C con mayor distribución que *B. tabaci* (Figura 11E y F).

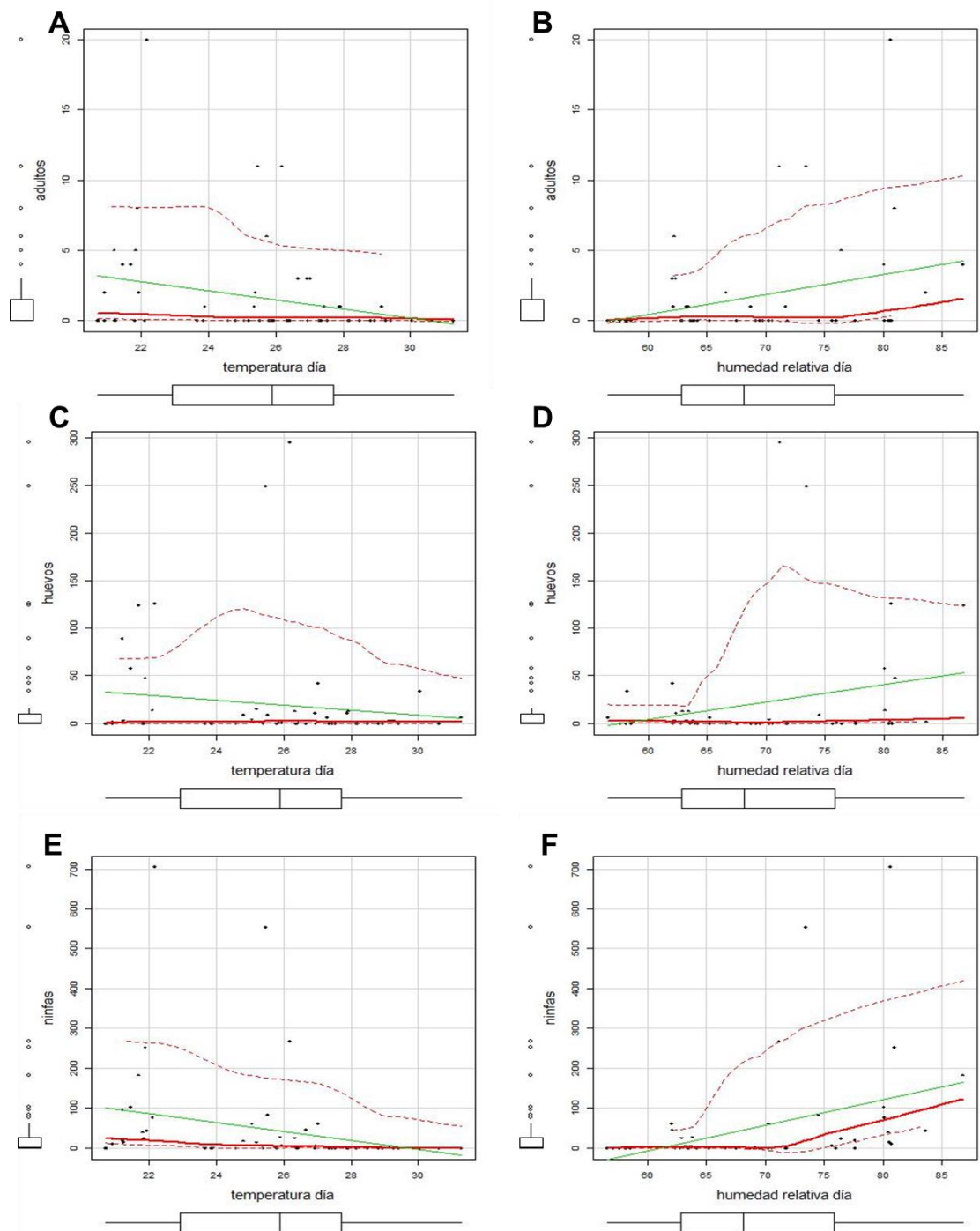


Figura 9.Dispersión de adultos, huevos y ninfas de *Bemisia tabaci* en relación de la temperatura (A, C y E) y humedad relativa (B, D, F) en el cultivo de tomate en invernadero durante los meses de octubre 2017 a febrero 2018 en Coris, Cartago.

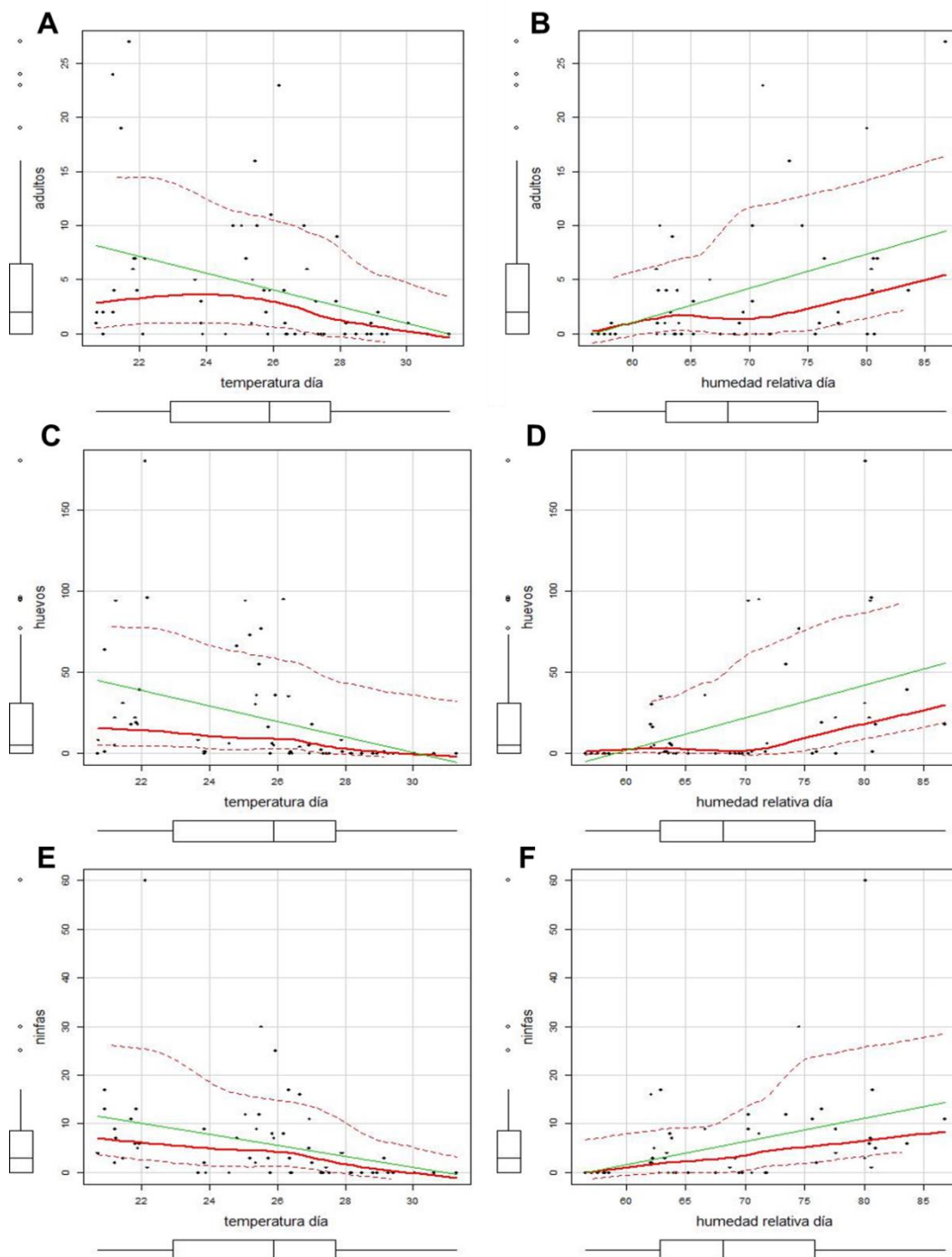


Figura 10. Dispersión de adultos, huevos y ninfas de *Trialeurodes vaporariorum* en relación de la temperatura (A, C y E) y humedad relativa (B, D, F) en el cultivo de tomate en invernadero durante los meses de octubre 2017 a febrero 2018 en Coris, Cartago.

3.2. Incidencia de Begomovirus

La incidencia de *Begomovirus* en las plantas se estimaron por medio de la detección por hibridación dot blot en el tejido nuevo del tercio superior de las plantas de tomate. Los muestreos contaron con 15 muestras por tratamiento para un total de 90 muestras para cada evaluación más los controles. El primer muestreo se realizó a los 15 ddt y el segundo a los cuatro meses cuando se observaron plantas asintomáticas en las parcelas y las plantas se encontraban en fructificación. En ambos, a pesar de encontrar plantas sintomáticas los resultados de hibridación dot blot para *Begomovirus* fue negativa, lo que indica que las poblaciones de *B. tabaci* en el invernado evaluado no se encontraban virulentas.

4. DISCUSIÓN

En este estudio se evaluaron formulaciones de extractos y hongos entomopatógenos para el manejo de mosca blanca en cultivo de tomate en invernadero. La población de moscas blancas que se estudió fue la que llegó al invernadero a medida que creció el cultivo, para lo cual se realizó la identificación por especie. Se encontró que la población de mosca blanca estaba compuesta por *B. tabaci* MED y *T. vaporariorum*, ambas especies tienen varios años de estar presentes en el país, sin embargo, no fue hasta 1992 donde aparecieron los primeros reportes de daños en cultivos como frijol, tomate, chile y frijol (Hilje et al. 1992).

Cuando se evaluó la composición de la población, se encontró que los individuos de *T. vaporariorum* superaron a los de *B. tabaci*, lo cual es similar a estudios realizados por Barboza (2019) y Can (2018) en muestreos realizados en el cultivo de tomate en el país. Desde el primer reporte de *B. tabaci* MED (Guevara-Coto et al. 2011), se ha ido observando un desplazamiento de esta especie a otras partes del país. Estos resultados fueron confirmados por el trabajo de Barboza et al. (2019) y Can et al. (2018), donde *B. tabaci* se encontró en regiones como Cartago donde no existían reportes de la misma, aunque en una baja proporción en relación con *T. vaporariorum*.

Bemisia. tabaci se conoce como un complejo de especies que presenta varios haplotipos los cuales varían por diferentes factores como plantas hospedantes, habilidad de alimentación, capacidad de transmisión de virus, fecundidad, resistencia a insecticidas, entre otros (Retes-Manjarrez et al. 2016). El haplotipo encontrado en el invernadero fue MED-i, de acuerdo con Gnankine (2018) este haplotipo se asocia a niveles altos de resistencia a piretroides, organofosforados y neonicotinoides por mutaciones en el tipo de voltaje de canal de sodio (L925I y T929V) más una mutación en la acetilcolinesterasa (F331W: alelo *Ace 1^R*). En el caso de *T. vaporariorum* sólo se encontró uno de los 11 haplotipos identificados en Costa Rica por Barboza et al. (2019) (Tv-i). A pesar de que la mayoría de las investigaciones sobre diversidad genética se han realizado en *B. tabaci* debido a los bajos niveles

de diversidad y divergencia de *T. vaporariorum*, Kapantaidaki et al. (2018) sugieren que existen dos razas (inglesa y estadounidense) las cuales se diferencian por sus capacidades reproductivas, y por los endosimbiontes que están presentes.

En este trabajo se observó el efecto de los productos Enlazador®F-1 (i.a. extractos de neem, ajo y chile) y Mosquetero SL (i.a. *B. bassiana*) en la presencia y cantidad de las especies de *B. tabaci* MED y *T. vaporariorum* en el cultivo de tomate en condiciones de invernadero. En el caso de *B. tabaci*, no se observó un efecto individual de ambos productos, dado que la mayoría de las OR no mostraron un manejo adecuado de los insectos (Enlazador®F-1 - testigo absoluto OR 1,48, en el caso de ninfas, por ejemplo), no obstante, ambos casos, al utilizar ambos productos mezclados (Enlazador®F-1 – Mosquetero SL) permitió un mejor manejo de las moscas blancas, principalmente sobre el estado adulto, sin causar una disminución sobre los huevos y ninfas.

Estos resultados se relacionan con los de otras investigaciones donde productos a base de extractos de neem no afectan la viabilidad de *B. bassiana* (Mamprim et al. 2014), lo que evidencia la compatibilidad entre el aceite de neem al 5% con *B. bassiana* cuando se utilizan mezclas en relaciones 1:1; de manera que se logra aumentar el porcentaje de protección en comparación con su efecto individual (Halder et al. 2013). Los distintos productos formulados a base de *B. bassiana* pueden llegar a ser compatibles con coayudantes e insecticidas químicos y biológicos, en donde se puede dar un efecto sinergista entre ellos (Ortega-Arenas et al. 2008). El tratamiento comercial (AZA-DIRECT 1.2 EC) fue más efectivo en todos los estados de *B. tabaci* según los OR, con diferencias sobre los demás tratamientos y el testigo absoluto. Mendoza-García et al. (2014), menciona que la efectividad de las sustancias vegetales en los cultivos no es tan elevada como el uso de formulaciones comerciales, aunque pueden variar en algunos casos.

Sobre la presencia de *B. tabaci* MED en adultos, las formulaciones evaluadas presentaron un mejor manejo al ser aplicadas en mezcla en comparación de cuando se aplicaron de manera independientes, sin embargo, no fue así para las evaluaciones en huevo y ninfa donde el testigo comercial presentó valores de OR mayores de 1,50. Este efecto podría estar relacionado a que los tratamientos a base de extractos vegetales pueden ser afectados por las concentraciones del producto, la composición, su forma de extracción (por disolventes polares o polares) y los tiempos de extracción (Cubillo et al. 1997; Mendoza-García et al. 2014). El efecto de los productos a base de neem puede variar según la concentración de azadirachtina y otros terpenoides presentes en las mezclas del extracto (Gopalakrishnan et al. 2014), los cuales han sido una de las causas de bajas eficiencias de manejo de *B. tabaci* en tomate con el uso de productos a base de neem (Flores-Alaña y Geraud-Pouey, 2015).

Diferentes cepas de *B. bassiana* muestran un excelente control de mosca blanca tanto en invernadero como en campo (Faria y Wraight, 2001). Se menciona que puede presentar un efecto sobre adultos, pero es más efectiva sobre estados inmaduros del insecto, donde se recomienda la utilización de dosis de conidios de $1 \times 10^{6-8}$ en condiciones de invernadero (Quesada-Moraga et al. 2006; Mendoza-García et al. 2014). A pesar de que en este experimento no se presentaron resultados similares a los antes comentados, debido al poco manejo que presentó Mosquetero tanto en adultos como inmaduros, se pudo dar un efecto de las cepas seleccionadas para la formulación del producto; dado que como menciona Quesada-Moraga et al. (2006), Esto se pudo dar por un efecto de las cepas seleccionadas para la formulación del producto; como menciona Quesada-Moraga et al. (2006). Esto autores mostraron que al evaluar 25 cepas de *B. bassiana* sobre *B. tabaci* y *T. vaporariorum*, todos los aislamientos fueron efectivos, pero variaron en su efecto insecticida con mortalidades de 3% a 85%, ya sea en campo o invernadero.

Mendoza-García et al. (2014) mencionan que las sustancias de origen vegetal extraídas para su uso sobre los cultivos pueden causar mortalidad de los adultos, ninfas y huevos de las moscas blancas, además de su efecto insecticida las cuales ayudan en el manejo de poblaciones, protegen los cultivos y repelen e inhiben la alimentación de los insectos en sus diferentes estados. Por esta razón, la utilización de Enlazador®F-1 con Mosquetero SL mezclados sobre los adultos podría presentarse como una forma de repelencia más que un efecto de mortalidad. Reyes et al. (1997) utilizaron macerados de semillas de neem en concentraciones 1 a 3% y lograron repelencias de moscas blancas de tres a cinco días, mientras que, con la aplicación de extractos de ajo en el cultivo de tomate, donde logra repeler moscas blancas si se aplican cada cinco días (Rodríguez, 2000).

Se conoce que la temperatura es uno de los factores ambientales que influyen en el crecimiento, desarrollo y reproducción de los insectos. A la vez, la susceptibilidad a la temperatura puede alterarse de acuerdo a las etapas de desarrollo, patógenos, desequilibrio nutricional, hábitats geográficos y otros estímulos ambientales. Estos efectos con los resultados obtenidos donde las poblaciones de *B. tabaci*, al adquirir el TYLCV aceleraron su desarrollo acortando la vida útil de los individuos y susceptibilidad térmica que llevó a una mayor mortalidad por estrés térmico (Pusag et al. 2012).

Moreno González y Fandiño Fiquitiva (2017) explican que las condiciones ideales en invernadero para mosca blanca son de 20°C a 25°C, para la temperatura de día y humedades de 55 a 80 %. Estos datos se relacionan con lo observado en la población de moscas blancas en el invernadero, donde la población aumentó después de 70% de humedad relativa y una disminución de las temperaturas mayores a 26°C. Factores climáticos como la temperatura juegan un papel importante en la interacción entre enfermedades, vectores y plantas, ya que alteraciones del clima pueden afectar la capacidad de los vectores para transmitir virus o la susceptibilidad de la planta (Ramos et al. 2019), sin embargo, hay autores que explican que debido al tamaño de las moscas blancas y al vivir en el envés de

las hojas, las condiciones climáticas como la humedad pueden ser diferentes a las del entorno, separando en microclima referente a las condiciones de la hoja y el macroclima del invernadero circundante, afectando la eficiencia de los controles biológicos en invernaderos (Boulard et al. 2002).

Los *Begomovirus* son un género de virus de plantas, donde se encuentra una de las especies más destructivas del cultivo de tomate, el *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), que se transmite por *B. tabaci* (Liu et al. 2016). Esta especie (*B. tabaci* MED) se encontraba en el invernadero, se caracteriza por transmitir el virus a las plantas toda la vida desde que lo adquiere, en el caso de *T. vaporariorum* este virus solo sobrevive seis horas en su sistema y no es capaz de transmitirlo (Ghanim, 2014). Sumado a esto, Matsuura et al. (2017) utilizó repelentes contra mosca blanca en tomate en invernadero, encontraron que al repeler estos insectos y dar paso al efecto anti alimentario es una vía de suprimir la infección por TYLCV. Dado en que las pruebas de hibridación salieron negativas a pesar de la presencia de plantas sintomáticas y de mosca blanca en el cultivo, se puede decir que las sintomatologías que presentaban las plantas no son a causa de virus de esta familia. A pesar de que no se puede asegurar que la población en el invernadero no fuera virulenta, el extracto vegetal utilizado en el estudio general de igual forma el efecto anti alimentario en moscas blancas y otras familias de insectos (Hafeez-ur-Rehman et al. 2015).

5. CONCLUSIÓN

- La identificación de individuos de moscas blancas evidencia que actualmente *B. tabaci* es capaz de convivir con *T. vaporariorum* en condiciones de invernadero.
- La presencia de *B. tabaci* no garantiza la infestación de virus de la familia de Begomovirus en el cultivo de tomate en invernadero.
- Las condiciones climáticas dentro de los invernaderos pueden estar afectando el desarrollo de las especies de moscas blancas y su capacidad de vector de enfermedades.
- El uso de extractos vegetales y hongos entomopatógenos pueden generar mortalidad en poblaciones de mosca blanca en condiciones de invernadero que permitan manejar las poblaciones y disminuir el uso de plaguicidas sintéticos a las que estas especies generan resistencia rápidamente.
- Existe un efecto de sinergismo al utilizar extractos vegetales y hongos entomopatógenos mezclándolos antes de las aplicaciones, logrando que además de ejercer un efecto de repelencia también se maneja las poblaciones de ninfas y huevos.
- El testigo comercial fue el mejor tratamiento con un mejor manejo de las poblaciones de moscas blancas en invernadero, esto demuestra que a pesar de que los extractos vegetales tengan el mismo ingrediente activo hay factores que pueden interferir como las concentraciones, dosis de aplicación, lugar de la planta de las que fueron extraídos, las mezclas con otros extractos, etc.

6. RECOMENDACIONES

- Se debe evaluar los estratos inferiores de las plantas ya que actualmente se presentan dos especies en un sistema de producción y se desconoce cómo conviven en la misma planta.
- A pesar de que en el estudio se utilizó líneas de separación entre tratamientos, sería ideal analizar cada extracto vegetal en diferentes sistemas para evitar contaminación en los tratamientos.
- Considerar los microclimas dentro del sistema y en planta, ya que es diferente la temperatura en el invernadero a la que se encuentra en el envés de la hoja.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, AG; Núñez, EM del P; Piña, BG; Castro, AG; Cárdenas, JCG. 2006. Extractos vegetales y aceites minerales como alternativa de control de mosca blanca (*Bemisia* spp.) en berenjena (*Solanum melongena* L.) en el Valle de Culiacán, Sinaloa, México. Revista Científica UDO Agrícola 6(1):84-91.
- Adhav, AS; Kokane, SR; Joshi, RS. 2018. Functional characterization of *Helicoverpa armigera* trehalase and investigation of physiological effects caused due to its inhibition by Validamycin A formulation. International Journal of Biological Macromolecules 112:638-647. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.221>.
- Álvarez, T; Silvio, V. 2017. Evaluación de métodos de muestreo y dinámica poblacional de mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) en invernadero para tomate (*Lycopersicon esculentum*), en el cantón Riobamba. Tesis Lic. Riobamba, Ecuador, ESPOCH. 103 p.
- Anderson, AJ; Kim, YC. 2018. Biopesticides produced by plant-probiotic *Pseudomonas chlororaphis* isolates. Crop Protection 105:62-69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.11.009>.
- Andreason, SA; Arif, M; Brown, JK; Ochoa-Corona, F; Fletcher, J; Wayadande, A. 2017. Single-target and multiplex discrimination of whiteflies (Hemiptera:

- Aleyrodidae) *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* with modified priming oligonucleotide thermodynamics. *Journal of economic entomology*, 110(4): 1821-1830.
- Arthurs, S; Dara, SK. 2018. Microbial biopesticides for invertebrate pests and their markets in the United States (en línea). *Journal of Invertebrate Pathology*. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2018.01.008>.
- Barboza, N. 2017. Diversidad genética de moscas blancas (Hemiptera:Aleyrodidae) y Begomovirus de sistemas de producción hortícola de tomate y chile dulce de Costa Rica y posibilidades de manejo mediante resistencia genética. Tesis Ph.D. San Jose, Costa Rica, UCR. 134 p.
- Barboza, N; Blanco-Meneses, M; Esker, P; Moriones, E; Inoue-Nagata, A. 2018. Distribution and diversity of begomoviruses in tomato and sweet pepper plants in Costa Rica. *Annals of Applied Biology*. 172(1): 20-32, doi:10.1111/aab.12398.
- Barboza, N., Esker, P., Inoue Nagata, A.K. Moriones, E. 2019. Genetic diversity and geographic distribution of *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* in Costa Rica. *Annals of Applied Biology*. DOI: 10.1111/aab.12490.
- Bezzar-Bendjazia, R; Kilani-Morakchi, S; Maroua, F; Aribi, N. 2017. Azadirachtin induced larval avoidance and antifeeding by disruption of food intake and digestive enzymes in *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 143:135-140. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.08.006>.
- Blanca, J; Montero-Pau, J; Sauvage, C; Bauchet, G; Illa, E; Díez, MJ; Cañizares, J. 2015. Genomic variation in tomato, from wild ancestors to contemporary breeding accessions. *BMC genomics*, 16(1): 257.
- Bolaños Herrera, A. 1998. Introducción a la olericultura. 1 ed. s.l., EUNED. 351 p.
- Boulard, T; Mermier, M; Fargues, J; Smits, N; Rougier, M; Roy, JC. 2002. Tomato leaf boundary layer climate: implications for microbiological whitefly control in greenhouses. *Agricultural and Forest Meteorology*, 110(3): 159-176.
- Boykin, LM. 2014. *Bemisia tabaci* nomenclature: lessons learned. *Pest Management Science* 70(10):1454-1459. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.3709>.

- Capinera, J. 2008. Whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae). Springer, Dordrecht (Serie Encyclopedia of Entomology):162.
- Can Vargas, X. (2018). Identificación molecular de las especies de mosca blanca y sus endosimbiontes bacterianos secundarios presentes en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en Costa Rica. <http://www.ciencias.ucr.ac.cr/sites/default/files/Xareni%20Can-2018-%20Identificaci%C3%B3n%20molecular%20de%20las%20especies%20de%20mosca%20blanca%20y%20sus%20endosimbiontes%20bacterianos%20secundarios%20presentes%20en%20el%20cultivo%20de%20tomate%20en%20Costa%20Rica.pdf>
- Castellanos, JZ. 2009. Manual de producción de tomate en invernadero. Gunajuato, México, Intagri, S.C. 456 p.
- Chandrasekaran, R; Revathi, K; Senthil-Nathan, S; Kalaivani, K; Hunter, WB; Duraipandiyar, V; Al-Dhabi, NA; Esmail, GA. 2018. Eco-friendly formulation of wild *Bacillus thuringiensis* secondary metabolites through molecular characterization against the lepidopteran pest. Physiological and Molecular Plant Pathology (Serie Natural Pesticide Research) 101:93-104. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2017.09.002>.
- Chu, D; Zhang, YJ; Wan, FH. 2010. Cryptic Invasion of the Exotic *Bemisia tabaci* Biotype Q Occurred Widespread in Shandong Province of China. Florida Entomologist 93(2):203-207. DOI: <https://doi.org/10.1653/024.093.0209>.
- Colvine, S; Branthôme, FX. 2016. The Tomato: A Seasoned Traveller. In The Tomato Genome. Springer, Berlin, Heidelberg. pp. 1-5.
- Cubillo, D.; Sanabria, G.; Hilje, L. 1997. Mortalidad de adultos de *Bemisia tabaci* con extractos de hombre grande (*Quassia amara*). Manejo integrado de Plagas, 45: 25-29.
- Das, S; Rahman, M; Kamal, M; Shishir, A. 2017. Species richness of thrips and whiteflies and their predators in mustard fields. Journal of the Bangladesh Agricultural University 15(1):7. DOI: <https://doi.org/10.3329/jbau.v15i1.33524>.

- Dolinski, C. 2016. Entomopathogenic nematodes against the main guava insect pests. *BioControl* 61(3):325-335. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10526-015-9695-y>.
- Durán-Mora, J; Guzmán-Hernández, T de J. 2017. Comportamiento de nematodos fitoparásitos en dos sistemas de cultivo de tomate convencional en Costa Rica. *Revista Tecnología en Marcha* 30(3):59-70.
- Erdogan, C; Moores, G; Gurkan, MO; Gorman, KJ; Denholm, I. 2008. Insecticide resistance and biotype status of populations of the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) from Turkey. *Crop Protection* 27(3-5):600-605. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2007.09.002>.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2015. El estado mundial de la agricultura y la alimentación 2015 (SOFA). La protección social y la agricultura: romper el ciclo de la pobreza rural. Roma, Italia. 165 p.
- Faria, M.; Wraight, S.P. 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. *Crop Protect.* 20: 767–778.
- Flores-Alaña, L; Geraud-Pouey, F. 2015. Efectividad de algunos insecticidas para el control de *Bemisia tabaci* (Gennadius) en tomate, *Solanum lycopersicum* L. 40:7.
- Frohlich, DR; Torres-Jerez, I; Bedford, ID; Markham, PG; Brown, JK. 1999. A phylogeographical analysis of the *Bemisia tabaci* species complex based on mitochondrial DNA markers. *Molecular Ecology* 8(10):1683-1691.
- Gerszberg, A; Hnatuszko-Konka, K; Kowalczyk, T; Kononowicz, AK. 2015. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in the service of biotechnology. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 120(3): 881-902.
- Ghanim, M. 2014. A review of the mechanisms and components that determine the transmission efficiency of *Tomato yellow leaf curl virus* (Geminiviridae; Begomovirus) by its whitefly vector. *Virus research*, 186: 47-54.
- Gnankine, O; Hema, O; Namountougou, M; Mouton, L; Vavre, F. 2018. Impact of pest management practices on the frequency of insecticide resistance alleles

- in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) populations in three countries of West Africa. *Crop Protection*, 104:86-91.
- Gopalakrishnan, S; Kumari, BR; Vijayabharathi, R; Sathya, A; Srinivas, V; Rao, GVR. 2014. Efficacy of Major Plant Extracts/Molecules on Field Insect Pests (en línea). s.l., Springer, New Delhi. p. 63-88 DOI: https://doi.org/10.1007/978-81-322-2006-0_5.
- Guevara-Coto, JA; Barboza-Vargas, N; Hernandez-Jimenez, E; Hammond, RW; Ramirez-Fonseca, P. 2011. *Bemisia tabaci* Biotype Q is present in Costa Rica. *European Journal of Plant Pathology* 131(2):167. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-011-9805-3>.
- Hafeez-ur-Rehman; Nadeem, M; Ayyaz, M; Begum, HA. 2015. Comparative efficacy of neem oil and lambda-cyhalothrin against whitefly (*Bemisia tabaci*) and jassid (*Amrasca devastans* Dist) in okra field. *Russian Agricultural Sciences* 41(2-3):138-145. DOI: <https://doi.org/10.3103/S1068367415020238>.
- Halder, J; Rai, AB; Kodandaram, MH. 2013. Compatibility of Neem Oil and Different Entomopathogens for the Management of Major Vegetable Sucking Pests. *National Academy Science Letters* 36(1):19-25. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40009-012-0091-1>.
- Hilje Quirós, L. 2001. Avances hacia el manejo sostenible del complejo mosca blanca-geminivirus en tomate, en Costa Rica (en línea). Consultado 20 jun. 2018. Disponible en <http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr:80/handle/11554/5817>.
- Hilje, L; Lastra, R; Zoebisch, T; Calvo, G; Segura, L; Barrantes, L; Alpízar, D; Amador, R. 1992. Las Moscas Blancas en Costa Rica. In *Las Moscas Blancas (Homoptera: Aleyrodidae) En América Central y el Caribe*. Taller Centroamericano y del Caribe sobre Moscas Blancas, Turrialba (Costa Rica) 3-5 Ago 1992. 71 p. Informe técnico No. 205.
- Hilje, L; Morales, FJ. 2008. Whitefly Bioecology and Management in Latin America (en línea). s.l., Springer, Dordrecht. p. 4250-4260 DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6359-6_2669.

- Hosseini, RS; Madadi, H; Hosseini, M; Delshad, M; Dashti, F. 2015. Nitrogen in Hydroponic Growing Medium of Tomato Affects the Demographic Parameters of *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae). Neotropical Entomology 44(6):643-650. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13744-015-0327-0>.
- Huelsenbeck JP; Ronquist F; Nielsen R; Bollback J. 2001. Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. Science, 294: 2310–2314.
- Hui, YH; Evranuz, EÖ. 2015. Handbook of Vegetable Preservation and Processing, Second Edition. 2015. CRC Press. 978 p.
- Humbert, P; Vemmer, M; Mävers, F; Schumann, M; Vidal, S; Patel, AV. 2018. Development of an attract-and-kill co-formulation containing *Saccharomyces cerevisiae* and neem extract attractive towards wireworms (en línea). Pest Management Science, 74(7):1575-1585 DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.4842>.
- Jaber, LR; Ownley, BH. 2018. Can we use entomopathogenic fungi as endophytes for dual biological control of insect pests and plant pathogens? Biological Control (Serie When insect endosymbionts and plant endophytes mediate biological control outcomes) 116:36-45. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.01.018>.
- Jiménez-Martínez, E; Rodríguez, HEL; González, JER. 2013. Evaluación de productos botánicos y químicos para el control de mosca blanca (*Bemisia tabaci*, Gennadius.) y geminivirus en el cultivo de tomate (*Solanum esculentum*, Mill.), EN TISMA, MASAYA. La Calera 12(19):96-106.
- Kamaraj, C; Gandhi, PR; Elango, G; Karthi, S; Chung, I-M; Rajakumar, G. 2018. Novel and environmental friendly approach; Impact of Neem (*Azadirachta indica*) gum nano formulation (NGNF) on *Helicoverpa armigera* (Hub.) and *Spodoptera litura* (Fab.). International Journal of Biological Macromolecules 107:59-69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.145>.
- Kapantaidaki, DE; Sadikoglou, E; Tsakireli, D; Kampanis, V; Stavrakaki, M; Schorn, C; Ilias, A; Riga, M; Tsiamis, G; Nauen, R; Skavdis, G; Vontas, J; Tsagkarakou, A. 2018. Insecticide resistance in *Trialeurodes vaporariorum*

- populations and novel diagnostics for kdr mutations. *Pest Management Science* 74(1):59-69. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.4674>.
- Khan, MA; Butt, SJ; Nadeem, F; Yousaf, B; Javed, HU. 2017. Morphological and physico-biochemical characterization of various tomato cultivars in a simplified soilless media. *Annals of Agricultural Sciences*, 2 (2): 139-143.
- Khan, MA; Khan, Z; Ahmad, W; Paul, B; Paul, S; Aggarwal, C; Akhtar, MS. 2015. Insect Pest Resistance: An Alternative Approach for Crop Protection (en línea). s.l., Springer, Cham. p. 257-282 DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-23162-4_11.
- Khatun, MF; Jahan, SMH; Lee, S; Lee, K-Y. 2018. Genetic diversity and geographic distribution of the *Bemisia tabaci* species complex in Bangladesh. *Acta Tropica* 187:28-36. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.07.021>.
- Knapp, S; Peralta, IE. 2016. The Tomato (*Solanum lycopersicum* L., Solanaceae) and Its Botanical Relatives. *In The Tomato Genome*, Springer, Berlin, Heidelberg. pp. 7-21.
- Liu, GX; Ma, HM; Xie, HY; Xuan, N; Picimbon, JF. 2016. Variación de secuencia de la proteína quimiosensorial 2 de *Bemisia tabaci* en especies crípticas B y Q: nuevos marcadores de ADN para el reconocimiento de la mosca blanca. *Gene*, 576 (1): 284-291.
- Lorenzo, ME; Grille, G; Basso, C; Bonato, O. 2016. Host preferences and biotic potential of *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in tomato and pepper. *Arthropod-Plant Interactions* 10(4):293-301. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11829-016-9434-z>.
- Mamprim, AP; Alves, LFA; Formentini, MA; Martins, CC; Pares, RB. 2014. Efecto de productos fitosanitarios sobre parámetros biológicos de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Hypocreales: Cordycipitaceae) 29(2):9.
- Mascarin, GM; Jaronski, ST. 2016. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 32(11):177. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2131-3>.
- Matsuura, S; Kashima, T; Kitamura, T; Kajihara, S; Abe, H. 2017. Suppressive effect of acetylated glyceride (Bemidetach™ EC) on Tomato yellow leaf curl virus

- transmitted by the whitefly *Bemisia tabaci* on greenhouse tomato plants. *Phytoparasitica*, 45(2): 239-242.
- Mendoza-García, EE, Ortega-Arenas, LD, Pérez-Pacheco, R., y Rodríguez-Hernández, C. (2014). Repelencia, toxicidad e inhibición de la oviposición de extractos vegetales contra la mosca blanca de invernadero *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Revista chilena de investigación agrícola*, 74 (1), 41-48.
- Moreau, TL; Isman, MB. 2012. Combining reduced-risk products, trap crops and yellow sticky traps for greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) management on sweet peppers (*Capsicum annum*). *Crop Protection* 34:42-46. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.11.011>.
- Moreau, TL; Isman, MB. 2012. Combining reduced-risk products, trap crops and yellow sticky traps for greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) management on sweet peppers (*Capsicum annum*). *Crop protection*, 34:42-46.
- Moreno González, JC; Fandiño Fiquitiva, GM. 2017. Manejo Integrado de la Mosca Blanca (Homóptera: Aleyrodidae) en Cultivos de Tomate (*Solanum lycopersicum*) en Condiciones de Invernadero. Tesis Lic. Bogotá, Colombia, UD. 47 p.
- Moreno-Ripoll, R; Gabarra, R; Symondson, WOC; King, RA; Agustí, N. 2014. Do the interactions among natural enemies compromise the biological control of the whitefly *Bemisia tabaci*? *Journal of Pest Science* 87(1):133-141. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10340-013-0522-x>.
- Nguyen, Q; Qi, YM; Wu, Y; Chan, LCL; Nielsen, LK; Reid, S. 2011. In vitro production of *Helicoverpa baculovirus* biopesticides—Automated selection of insect cell clones for manufacturing and systems biology studies. *Journal of Virological Methods* 175(2):197-205. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2011.05.011>.
- Ortega-Arenas, L.; Fu-Castillo, A.; Lourençao, A.; Rodríguez, C.; Gómez, C.; García, F.; Arredondo, H.; Lara, J.; Djair, J.; Avilés, M.; Nava, U.; Carapia, V. 2008.

- Moscas blancas: temas selectos sobre su manejo. Ed. Mundi-Prensa, México. 120 p.
- Oulhaci, CM; Denis, B; Kilani-Morakchi, S; Sandoz, J-C; Kaiser, L; Joly, D; Aribi, N. s. f. Azadirachtin effects on mating success, gametic abnormalities and progeny survival in *Drosophila melanogaster* (Diptera). Pest Management Science 74(1):174-180. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.4678>.
- Ovalle, TM; Parsa, S; Hernández, MP; Lopez-Lavalle, LAB. 2014. Reliable molecular identification of nine tropical whitefly species. Ecology and Evolution 4(19):3778-3787. DOI: <https://doi.org/10.1002/ece3.1204>.
- Parrella, G; Scassillo, L; Giorgini, M. 2012. Evidence for a new genetic variant in the *Bemisia tabaci* species complex and the prevalence of the biotype Q in southern Italy. Journal of Pest Science 85(2):227-238. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10340-012-0417-2>.
- Pavela, R; Kazda, J; Herda, G. 2009. Effectiveness of Neem (*Azadirachta indica*) insecticides against Brassica pod midge (*Dasineura brassica* Winn). Journal of Pest Science 82(3):235-240. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10340-009-0244-2>.
- Pérez, JEM. 2015. Evaluación de 60 genotipos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivados bajo invernadero en Costa Rica. InterSedes, 16(33): 83-122.
- Perring, TM; Stansly, PA; Liu, TX; Smith, HA; Andreason, SA. 2018. Whiteflies: Biology, Ecology, and Management (en línea). In Wakil, W; Brust, GE; Perring, TM (eds.). San Diego, Academic Press. p. 73-110 DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802441-6.00004-8>.
- Potter, JL; Nakhla, MK; Mejía, L; Maxwell, DP. 2003. PCR and DNA hybridization methods for specific detection of bean-infecting begomoviruses in the Americas and Caribbean. Plant Disease 87(10): 1205-1212.
- Pusag, JCA; Jahan, SH; Lee, KS; Lee, S; Lee, KY. 2012. Upregulation of temperature susceptibility in *Bemisia tabaci* upon acquisition of Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV). Journal of insect physiology, 58(10):1343-1348.

- Quesada-Moraga, E.; Maranhao, E.; Valverde-García, P.; Santiago-Álvarez, C. 2006. Selection of *Beauveria bassiana* isolates for control of the whiteflies *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* on the basis of their virulence, thermal requirements, and toxicogenic activity. *Biological Control*, 36(3), 274–287. Doi: 10.1016/j.biocontrol.2005.09.022.
- Ragunath, PK; Abhinand, PA; Archanna, K. 2014. Relevance of Bioinformatics in Biopesticide Management: A Comparative Comprehensive Review (en línea). s.l., Springer, New Delhi. p. 345-356 DOI: https://doi.org/10.1007/978-81-322-1877-7_20.
- Rakha, M; Hanson, P; Ramasamy, S. 2017. Identification of resistance to *Bemisia tabaci* Genn. in closely related wild relatives of cultivated tomato based on trichome type analysis and choice and no-choice assays. *Genetic Resources and Crop Evolution* 64(2):247-260. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10722-015-0347-y>.
- Ramírez-Vargas, C; Nienhuis, J. 2012. Cultivo protegido de hortalizas en Costa Rica. *Revista Tecnología en Marcha* 25(2):10-20. DOI: <https://doi.org/10.18845/tm.v25i2.303>.
- Ramos, RS; Kumar, L; Shabani, F; Picanço, MC. 2019. Riesgo de propagación del virus del rizo de la hoja amarilla del tomate (TYLCV) en cultivos de tomate bajo diversos escenarios de cambio climático. *Sistemas agrícolas*, 173: 524-535.
- Reddy, PP. 2016a. Protected Cultivation (en línea). s.l., Springer, Singapore. p. 1-11 DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-287-952-3_1.
- Reddy, PP. 2016b. Sustainable Crop Protection under Protected Cultivation (en línea). Singapore, Springer Singapore. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-981-287-952-3>.
- Retes-Manjarrez, JE.; Hernández-Verdugo, S.; Pariaud, B; Melgoza-Villagómez, CM.; Pacheco-Olvera, A.; Parra-Terraza, S.; Garzón-Tiznado, JA. 2016. Detección de resistencia al virus huasteco vena amarilla del chile y su heredabilidad en genotipos silvestres de *Capsicum annuum* L. *Interciencia*, 41(8): 541-547.

- Reyes, R.; Quiroz, R.; Jiménez, M.; Navarro, A.; Cassani, J. 1997. Antifungal activity of selected plant secondary metabolites against *Coriolus versicolor*. Journal of Tropical Forest Products, 3(4): 110-113.
- Roditakis, E; Stavrakaki, M; Grispou, M; Achimastou, A; Waetermeulen, XV; Nauen, R; Tsagkarakou, A. 2017. Flupyradifurone effectively manages whitefly *Bemisia tabaci* MED (Hemiptera: Aleyrodidae) and tomato yellow leaf curl virus in tomato. Pest Management Science 73(8):1574-1584. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.4577>.
- Rodríguez, 2000. Plantas contra plagas: Potencial práctico de ajo, anona, neem, chile y tabaco. Red de Acción de Plaguicidas y Alternativas en México (RAPAM) y red de Acción en Alternativas al Uso de Agroquímicos (RAAA). 1ª Edición. Montecillo Edo. de México, México. 133 pp.
- Scotta, RR; Sánchez, DA; Arregui MC. 2014. Determinación de las pérdidas causadas por la mosca blanca de los invernaderos (*Trialeurodes vaporariorum*) en cultivos de tomate bajo invernadero. Revista FAVE-Ciencias Agrarias, 13:(1-2).
- Simmons, A. M; Abd-Rabou, S; Hindy, M. 2015. Comparison of Three Single-Nozzle Operator-Carried Spray Applicators for Whitefly (*Bemisia tabaci*) Management on Squash. Agricultural Sciences 06(11):1381-1386. DOI: <https://doi.org/10.4236/as.2015.611133>.
- Smith, GH; Roberts, JM; Pope, TW. 2018. Terpene based biopesticides as potential alternatives to synthetic insecticides for control of aphid pests on protected ornamentals. Crop Protection 110:125-130. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.04.011>.
- Solórzano Morales, Á; Castro Vásquez, R; Barboza Vargas, N; Hernández Jiménez, E; W. Hammond, R; Ramírez Fonseca, P. 2017. Detección de crinivirus y begomovirus en plántulas de tomate y arvenses asociadas a semilleros. Agronomía Mesoamericana 28(2):477. DOI: <https://doi.org/10.15517/ma.v28i2.25860>.
- Sugiyama, K; Noda, T; Maeda, T; Hinomoto, N. 2013. Comparison of the host-handling behavior of *Eretmocerus mundus* on *Bemisia tabaci* B biotype, Q

- biotype and *Trialeurodes vaporariorum*. BioControl 58(5):615-623. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10526-013-9521-3>.
- Sugiyama, K; Ohishi, N; Saito. T. 2014. Preliminary evaluation of greenhouses employing positive-pressure forced ventilation to prevent invasion by insect pests | SpringerLink. (en línea, sitio web). Consultado 20 jun. 2018. Disponible en <https://link-springer-com.ezproxy.sibdi.ucr.ac.cr/article/10.1007/s13355-014-0285-8>.
- Thompson Dean G; Tonon Amanda; Beltran Eduardo; Hernandez Felix. 2017. Inhibition of larval growth and adult fecundity in Asian long-horned beetle (*Anoplophora glabripennis*) exposed to azadirachtins under quarantine laboratory conditions. Pest Management Science 74(6):1351-1361. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.4810>.
- Tsueda, H; Tsuduki, T; Tsuchida, K. 2014. Factors that affect the selection of tomato leaflets by two whiteflies, *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Applied Entomology and Zoology 49(4):561-570. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13355-014-0287-6>.
- Uchibori, M; Hirata, A; Suzuki, M; Ugaki, M. 2013. Tomato yellow leaf curl virus accumulates in vesicle-like structures in descending and ascending midgut epithelial cells of the vector whitefly, *Bemisia tabaci*, but not in those of nonvector whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. Journal of General Plant Pathology 79(2):115-122. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10327-012-0426-2>.
- Urbaneja, A; Desneux, N; Gabarra, R; Arnó, J; González Cabrera, J; Mafra Neto, A; Peña, JE. 2013. Biology, ecology and management of the South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*. Potential invasive pests of agricultural crops. 3: 98.
- Vargas, CR; Nienhuis, J. 2012. Evaluación del crecimiento y productividad del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) bajo cultivo protegido en tres localidades de Costa Rica. Tecnología en Marcha 25(1):3-15.
- Vázquez, LL; Murguido Morales, CA; Elizondo, AI; Elósegui, O; Morales, FJ. 2007. Control biológico de la mosca blanca *Bemisia tabaci*. Colombia, CIAT.no. 355: 41.

- Verbeek, M; Dulleman, AM; Van der Vlugt, RA. 2017. Aphid transmission of Lettuce necrotic leaf curl virus, a member of a tentative new subgroup within the genus Torradovirus. *Virus research*. 241: 25-130.
- Wakil, W; Brust, GE; Perring, TM. 2018. Chapter 1 - Tomato and Management of Associated Arthropod Pests: Past, Present, and Future (en línea). In Wakil, W; Brust, GE; Perring, TM (eds.). San Diego, Academic Press. p. 3-12 DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802441-6.00001-2>.
- Wang, X; Yang, N. 2017. The Whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) (en línea). In Wan, F; Jiang, M; Zhan, A (eds.). Dordrecht, Springer Netherlands, (Invinger Nature - Springer Series in Invasion Ecology). p. 159-182 DOI: https://doi.org/10.1007/978-94-024-0948-2_8.
- Wang, XW; Liu, SS. 2016. Functional Genomics in the Whitefly *Bemisia tabaci* Species Complex (en línea). s.l., Springer, Cham. p. 201-214 DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-24049-7_8.
- Watanabe, LFM; Bello, VH; Marchi, BRD; Sartori, MMP; Pavan, MA; Krause-Sakate, R. 2018. Performance of *Bemisia tabaci* MEAM1 and *Trialeurodes vaporariorum* on *Tomato chlorosis virus* (ToCV) infected plants (en línea). *Journal of Applied Entomology* 0(0). DOI: <https://doi.org/10.1111/jen.12559>.
- Yao, FL; Zheng, Y; Huang, XY; Ding, XL; Zhao, JW; Desneux, N; He, Y-X; Weng, Q-Y. 2017. Dynamics of *Bemisia tabaci* biotypes and insecticide resistance in Fujian province in China during 2005–2014. *Scientific Reports* 7:40803. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep40803>.